

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche
scientifique



Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,
et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire des Produits Naturels « LAPRONA »

Mémoire
Présenté par

BEN MAHDI Leila Djamila

BELABID Kaouter

en vue de l'obtention du
Diplôme de Master
En Science Alimentaire
Option : Nutrition et diététique

Thème :

**Les activités biologiques et pharmacologiques des
extraits de *Rubus ulmifolius* Schott.**

Soutenu le : 26 /06/2022

Mme BELARBI Meriem	Professeur	Université de Tlemcen	Présidente
Mme SELADJI BAKKARA Meryem	MCA	Université d'Oran 1	Examinatrice
Mme DIB BENAMAR Hanane	MCA	Université de Tlemcen	Encadrant

Année universitaire : 2021 - 2022

REMERCIEMENTS

*TOUT D'ABORD, NOUS EXPRIMONS NOS PROFONDS REMERCIEMENTS
À DIEU LE TOUT PUISSANT QUI NOUS A GUIDER SUR LE BON
CHEMIN ET NOUS A DONNÉ LE COURAGE, LA PATIENCE ET LA
VOLONTÉ D'ACHEVER CE TRAVAIL.*

*EN SECOND LIEU, NOUS TENONS À REMERCIER CHALEUREUSEMENT
NOTRE ENCADRANT **M^{ME} DIB-BENAMAR HANANE** MAITRE DE
CONFÉRENCES CLASSE A, A L'UNIVERSITE DE TLEMCEN AU
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE, POUR SES CONSEILS PERTINENTS, SA
COMPRÉHENSION, SA COMPÉTENCE SCIENTIFIQUE ET POUR TOUT LE
TEMPS QU'ELLE NOUS A CONSACRÉ, QUI NOUS A PERMIS DE MENER
À TERME CE TRAVAIL.*

*NOUS TENONS PARTICULIÈREMENT À REMERCIER LES MEMBRES DU
JURY D'AVOIR ACCEPTÉ DE JUGER CE MODESTE MÉMOIRE. **M^{ME}
BELARBI MERIEM**, PROFESSEUR A L'UNIVERSITE DE TLEMCEN AU
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DE NOUS FAIRE L'HONNEUR DE
PRÉSIDER CE JURY. VEUILLEZ TROUVER ICI LE TÉMOIGNAGE DE
NOTRE PROFOND RESPECT ET **M^{ME}SELADJI BAKKARA MERYEM**
MAITRE DE CONFÉRENCE CLASSE A AU DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
À L'UNIVERSITÉ D'ORAN 1, D'AVOIR ACCEPTÉ DE JUGER CE TRAVAIL.
SOYEZ ASSURÉS DE NOTRE PROFONDE GRATITUDE ET NOS
REMERCIEMENTS LES PLUS SINCÈRES.*

*ENFIN, NOUS REMERCIONS TOUTES LES PERSONNES QUI ONT
PARTICIPÉ DE PRÈS OU DE LOIN À LA RÉALISATION DE CE MODESTE
TRAVAIL, À NOS FAMILLES ET NOS AMIS QUI PAR LEURS PRIÈRES ET
LEURS ENCOURAGEMENTS ON A PU SURMONTER TOUS LES
OBSTACLES.*

MERCI À TOUS ET TOUTES.

DÉDICACES

*A MES TRÈS CHERS PARENTS, POUR TOUS, LEUR AMOUR, LEURS PRIÈRES
TOUT AU LONG DE MES ÉTUDES, LEUR SOUTIEN QUI FUT UNE LUMIÈRE
DANS TOUT MON PARCOURS, SANS VOUS JE N'AURAI JAMAIS PU ÊTRE CE
QUE JE SUIS, AUCUNE DÉDICACE NE SAURAIT EXPRIMER L'AMOUR,
L'ESTIME ET LE RESPECT QUE J'AI TOUJOURS EU POUR VOUS. CE MODESTE
TRAVAIL EST LE FRUIT DE TOUS LES SACRIFICES QUE VOUS AVEZ DÉPLOYÉS
POUR MON ÉDUCATION.*

*A MES CHERS GRANDS FRÈRES, ...POUR LEUR APPUI ET LEUR
ENCOURAGEMENT ET LEUR SOUTIEN MORAL,
SANS OUBLIER MON BINÔME, ... MA CHÈRE AMIE LEILA, EN TÉMOIGNAGE
DE L'AMITIÉ QUI NOUS A UNI ET LES SOUVENIRS DE TOUS LES MOMENTS
QUE NOUS AVONS PASSÉS ENSEMBLE.
QUE DIEU LE TOUT PUISSANT VOUS GARDE ET VOUS PROCURE LA SANTÉ
LA RÉUSSITE ET LE BONHEUR.*

KAOUTER

DÉDICACES

JE DÉDIE CET ÉVÈNEMENT MARQUANT DE MA VIE AUX PERSONNES LES PLUS CHÈRES À MES YEUX, MES PARENTS QUOI QUE JE FASSE OU QUE JE DISE JE NE SAURAI POINTS VOUS REMERCIER, VOTRE BIENVEILLANCE ET VOS ENCOURAGEMENTS ET VOTRE PRÉSENCE À MES CÔTÉS A TOUJOURS ÉTÉ MA SOURCE DE FORCE.

A MON FRÈRE RYAD QUI A TOUJOURS ÉTÉ LÀ POUR ME SOUTENIR A QUI JE SOUHAITE UN AVENIR RADIEUX

CE TRAVAIL EST DÉDIÉ AUSSI À MON TRÈS CHER BINÔME ET AMIE KAOUTER CE FUT UN RÉEL PLAISIR DE COLLABORER ENSEMBLE

AINSI QU'À TOUTES LES PERSONNES QUI M'ONT ENCOURAGÉ QUE DIEU VOUS BÉNISSE ET VOUS PROCURE BONHEUR RÉUSSITE ET SURTOUT SANTÉ.

LEILA

Résumé

De nos jours, l'utilisation de plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

L'objectif de notre travail s'est porté sur l'étude des composants bioactifs et l'évaluation de leurs activités biologiques et propriétés thérapeutiques des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. en analysant 4 articles scientifiques qui traitent cette même thématique.

Rubus ulmifolius S. ou la mûre sauvage appartient à la famille des Rosacées : c'est une plante médicinale traditionnellement utilisée pour ses propriétés bénéfiques.

Dans le premier article, le criblage phytochimique des feuilles de *R. ulmifolius* a révélé la présence de métabolites secondaires. Le potentiel antioxydant de l'extrait méthanolique brut et de l'extrait brut riche en flavonoïdes des parties aériennes de *R. ulmifolius* a été déterminé par le pourcentage de piégeage du radical libre DPPH montrant une inhibition de ($74,2 \pm 0,324$ % et $83,16 \pm 0,091$ % respectivement) comparable à celle de l'acide ascorbique qui était de $87,26 \pm 0,128$ %. De même les deux extraits ont montrés une activité antipyrétique car après leurs administrations la température corporelle des rats a diminué de 74%. Le deuxième article a révélé par la carte protéomique des cellules de myélome murin P3X traitées avec une concentration de 30µl/ml d'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* des modifications significatives des cellules cancéreuses qui ont conduit à une activité antiproliférative.

Dans le troisième article, l'extrait de *R. ulmifolius* a montré une activité anti-inflammatoire significative comparée à l'efficacité du médicament standard (diclofénac).

Enfin, dans 4^{ème} article une inhibition bactérienne a été observée pour une concentration d'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* supérieur à 50%. Les résultats expérimentaux de l'activité de l'extrait obtenus par différentes méthodes d'extraction contre la bactérie cariopathogène *S.mutants* ont montré que l'extrait méthanolique a représenté le meilleur résultat avec une CMI antibactérienne de 6,25%, cela indique une activité antimicrobienne.

Mots clé : *Rubus ulmifolius* S., composés phénoliques, activité antioxydante et antibactérienne, activité antipyrétique, activité anti-inflammatoire, activité antiproliférative.

Abstract :

Nowadays, the use of medicinal plants in herbal medicine has received great interest in biomedical research. This renewed interest comes on the one hand from the fact that medicinal plants represent an inexhaustible source of natural bioactive substances and compounds and on the other hand from the need to research better medication through a gentler therapy without side effects.

The objective of our work focused on the study of the bioactive components and the evaluation of their biological activities and therapeutic properties of the extracts of the leaves of *Rubus ulmifolius* by analyzing 4 scientific articles which deal with this same theme.

Rubus ulmifolius Schott or wild blackberry belongs to the Rosaceae family : it is a medicinal plant traditionally used for its beneficial properties.

In the first article, phytochemical screening of *R. ulmifolius* leaves revealed the presence of secondary metabolites. The antioxidant potential of the crude methanolic extract and the crude flavonoid-rich extract of the aerial parts of *R. ulmifolius* was determined by the percentage of scavenging of the free radical DPPH showing an inhibition of ($74.2 \pm 0.324\%$ and $83.16 \pm 0.091\%$ respectively) comparable to that of ascorbic acid which was $87.26 \pm 0.128\%$. Similarly, the two extracts show edantipyretic activity because after their administration the body temperature of the rats decreased by 74%. The second article revealed, by means of the proteomic map of P3X murine myeloma cells treated with a concentration of 30 $\mu\text{l/ml}$ of extract from the leaves of *R. ulmifolius*, significant modifications of the cancerous cells, hence an antiproliferative activity.

In the third article, the extract of *R. ulmifolius* showed significant anti-inflammatory activity compared to the efficacy of the standard drug (diclofenac).

Finally, in the last article, bacterial inhibition was observed for a concentration of *R. ulmifolius* leaf extract of less than 50%. The experimental results of the activity of the extract obtained by different extraction methods against the bacterium cariopathogenesis *S. mutants* showed that the methanolic extract represented the best result with an antibacterial MIC of 6.25%, this indicates antimicrobial activity.

Key words: *Rubus ulmifolius*, phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activity, antipyretic activity, anti-inflammatory activity, antiproliferative activity.

الملخص:

في الوقت الحاضر، حظي استخدام النباتات الطبية في طب الأعشاب باهتمام كبير في الأبحاث الطبية الحيوية. يأتي هذا الاهتمام المتجدد من ناحية من حقيقة أن النباتات الطبية تمثل مصدرًا لا ينضب من المواد والمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيًا ومن ناحية أخرى من الحاجة إلى البحث عن دواء أفضل من خلال علاج ألطف دون آثار جانبية.

ركز هدف عملنا على دراسة المكونات النشطة بيولوجيًا وتقييم أنشطتها البيولوجية وخصائصها العلاجية لمستخلصات أوراق *Rubus ulmifolius* S. خلال تحليل 4 مقالات علمية تتناول نفس الموضوع.

ينتمي *Rubus ulmifolius* S. أو العليق البري إلى عائلة Rosaceae وهو نبات طبي يستخدم تقليديًا لخصائصه المفيدة.

في المقال الأول، كشف الفحص الكيميائي النباتي لأوراق *R. ulmifolius* عن وجود مستقبلات ثانوية. تم تحديد إمكانات مضادات الأكسدة لمستخلص الميثانوليك الخام والمستخلص الخام الغني بالفلافونويد للأجزاء الجوية من *R. ulmifolius* من خلال النسبة المئوية للتنظيف من DPPH الجذري الحر الذي يظهر تثبيطًا قدره (74.2 0.324%) و (16.83 0.091%) على التوالي) مقارنة مع تلك الموجودة في وبالمثل، أظهر المستخلصان نشاطًا مضادًا للحرارة لأنه بعد إعطائهما انخفضت درجة حرارة الجسم للفئران بنسبة 59%. كشفت المقالة الثانية، عن طريق الخريطة البروتينية لخلايا الورم النخاعي الفؤادي P3X المعالجة بتركيز 30 µg لتر/لتر من المستخلص من أوراق *R. ulmifolius*، عن تعديلات كبيرة في الخلايا السرطانية، ومن ثم نشاط مضاد للتكاثر.

في المقالة الثالثة، أظهر مستخلص *R. ulmifolius* نشاطًا كبيرًا مضادًا للالتهابات مقارنة بفعالية الدواء القياسي (diclofenac).

أخيرًا، في المقالة الأخيرة، لوحظ تثبيط بكتيري لتركيز مستخلص أوراق *R. ulmifolius* بنسبة أقل من 50%. أظهرت النتائج التجريبية لنشاط المستخلص الذي تم الحصول عليه بطرق استخراج مختلفة ضد البكتيريا المسببة للأمراض الكربونية S. أن مستخلص الميثانوليك يمثل أفضل نتيجة مع MIC مضاد للبكتيريا بنسبة 6.25%، وهذا يشير إلى النشاط المضاد للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: *Rubus ulmifolius* S.، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا، النشاط المضاد للحرارة، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للتكاثر.

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie 1 :Synthèse bibliographique

ChapitreI. Les activités biologiques

I. Définition des activités biologiques 5

I.1 Activité antioxydante..... 5

I.2 Activité antimicrobienne 6

I.3 Activité anti-inflammatoire 7

I.4 Activité hypoglycémiant..... 7

I.5 Activitéanticoagulante 8

I.6 Activité cancéreuse..... 8

I.7 Activité antivirale 9

II. Les métabolites secondaires..... 10

II.1 Les plantes médicinales 10

II.2 Les principes actifs des plantes médicinales 10

II.3 Classification des métabolites secondaires 11

II.3.1 Composés phénoliques 11

II.3.2 Les alcaloïdes 17

II.3.3 Les terpènes..... 17

Chapitre II : *Rubus ulmifolius* S.

I. Présentation du *Rubus ulmifolius* S..... 19

I.1 La famille des Rosacées 19

I.2 Le genre *Rubus* 19

I.3 Présentation et origine 19

I.4 Répartition et climat 20

I.5 Description et classification botanique de *Rubus ulmifolius* S..... 21

I.6 Compositionde *Rubus ulmifolius* S..... 24

II. Utilisation thérapeutique de *Rubus ulmifolius* S. 25

III. Propriété biologique de <i>Rubus ulmifolius</i> S.	25
III.1 Activité antioxydante.....	25
III.2 Activité antimicrobienne	26
III.3 Activité anti-inflammatoire	27
III.4 Activité antifongique	28
III.5 Activité hypoglycémiante.....	29
III.6 Activité anticoagulante	30
III.7 Activité antiproliférative.....	31
III.8 Activité antivirale	31
Partie 2 :Analyses des articles	
Article 1	35
L'objectif de l'étude	35
Matériels et méthodes.....	35
Résultats et discussion.....	38
Article 02	44
L'objectif de l'étude	44
Matériel et méthodes	44
Résultats et discussions	45
Article 3	52
L'objectif de l'étude	52
Matériel et méthodes	52
Interprétations des résultats	53
Discussion	55
Article 4	56
L'objectif de l'étude	56
Matériel et méthodes	56
Discussionsdes résultats	57
Discussion générale	63
Conclusion	67
Références bibliographiques	69
Annexes	82

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

2D-PAGE : Electrophorèse bidimensionnelle sur gel de polyacrylamide.

CHAPS : 3-[(3-cholamidopropyl) diméthylammonio] -1-propanesulfonate

CL₅₀ : Concentration létale médiane.

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMBI : La concentration minimale inhibitrice du biofilm

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DL 50 : Dose létale médiane

DMEM : Eagle's minimal essential medium

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DTE : Dithio-1,4-érythritol.

ET : Ecart type

FBS : Sérum bovin fœtal

HPLC: Chromatographie liquid à haute performance

IAA: Iodoacétamide

IEF: Focalisation isoélectrique

MS : Spectrométrie de masse

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO : Monoxyde d'azote

P : Valeur-p

P3X : Cellulaire de myélome murin

PBS : Phosphate-buffered saline

PC : Poids corporel

PPM : Partie par million

Prdx1 : Peroxiredoxine 1

PTEN : Phosphatase and Tensin homolog

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SDS-PAGE : électrophorèse sur gel de dodécylsulfate de sodium polyacrylamide

SEM : Erreur standard de la moyenne

SFE : L'extraction par fluide supercritique

UV : Ultra violet

Liste des figures

Figure 1. Structure de base des flavonoides	13
Figure 2. Structure des anthocyanes	15
Figure 3. Structure de bases des tanins hydrolysables	16
Figure 4. Structure de base des tanins condensés.....	16
Figure 5. Structure de quelques alcaloïdes	17
Figure 6. Structure de base des terpènes	17
Figure 7. Répartition mondiale de la ronce	20
Figure 8. Turion et aiguillons	22
Figure 9. Détails de la fleur	22
Figure 10. Face supérieur des feuilles	22
Figure 11. Détails du fruit mûre.....	22
Figure 12. Prolifération de cellules de myélome murin P3X.....	46
Figure 13. Images de microscopie de la prolifération des cellules PX3 du myélome murin...47	
Figure 14. Protéomique comparative des cellules Px3 du myélome murin.....	48
Figure 15. Concentration en acides gras liée aux extraits de <i>R. ulmifolius</i>	58
Figure 16. Test de sensibilité antimicrobienne (Kirby Baeur) de 4 extraits différents de <i>R. ulmifolius</i> contre la bactérie cariophatogène <i>S. mutans</i>	59
Figure 17. Biofilm résiduel en utilisant 0.05% de 3 extraits différents de <i>R. ulmifolius</i>	60

Liste des tableaux

Tableau 1. Structure des squelettes des polyphénols	12
Tableau 2. différentes classes des flavonoides.....	14
Tableau 3. Présentation et description générale <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	19
Tableau 4. Classification botanique de <i>Rubus ulmifolius</i> S	23
Tableau 5. Composition chimique du fruit <i>Rubus ulmifolius</i> S	24
Tableau 6. Résultats des différents composés phytochimiques présents dans <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	38
Tableau 7. Test de cytotoxicité des crevettes de saumure des échantillons de test de <i>Rubus ulmifolius</i> S.....	39
Tableau 8. Activité antioxydante de <i>Rubus ulmifolius</i> S	40
Tableau 9. Effet des extraits bruts et flavonoides de <i>Rubus ulmifolius</i> S sur la pyrexie induite par les levures chez le rat	42
Tableau 10. Protéines exprimées différemment dans les cellules de myéline murin P3X traitées avec l'extrait de feuille de <i>R. ulmifolius</i> (5 l/ml de culture).	49
Tableau 11. Rendement en éthanol et extrait aqueux	53
Tableau 12. Criblage phytochimique	54
Tableau 13. Etude de la toxicité.....	54
Tableau 14. Œdème de l'oreille induit par l'huile de Croton.....	54
Tableau 15. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique.....	55
Tableau 16. Les valeurs de CMI, CMB et CMBI S.mutans observées avec des extraits actifs de <i>R. ulmifolius</i>	59

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes constituent un patrimoine précieux et jouent un rôle important dans l'art de la guérison à travers le monde du fait que l'ensemble des espèces végétales possède des vertus thérapeutiques connu comme des remèdes naturels phytothérapeutiques contre de nombreuses maladies (**Bousta et Enabili, 2011**).

La phytothérapie acquiert une dimension plus rigoureuse, notamment l'examen botanique des végétaux. La pharmacie moderne a pris un intérêt étroit sur les composants des plantes et grâce aux progrès en chimie et en physiologie, ils ont permis de mettre en évidence et de démontrer scientifiquement les principes actifs des plantes utilisés depuis des siècles. Cette combinaison de modernité et de méthodes traditionnelles a prouvé que chaque plante est une énorme source de substances végétales caractérisé par des bio activités intéressantes et susceptibles d'être utilisées comme un moyen contre certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques (**Abdeli, 2017**).

Parmi les principales originalités majeures des plantes leurs aptitudes à reproduire des substances naturelles extrêmement diverses, elles accumulent fréquemment des métabolites secondaires, ce sont des composants biochimiques naturellement trouvés dans toutes les parties de la plante, qui représentent le principe actif et lui confèrent une large gamme d'activités biologiques (**Macheix et al., 2005**).

Le genre *Rubus* comprend plus de 750 espèces de la famille des rosacées, il est traditionnellement employé à des fins thérapeutiques, particulièrement l'espèce *Rubus ulmifolius* S. qui synthétise de nombreuses variétés phytochimiques médicalement actives. La plupart de ses composés phytochimiques possèdent des propriétés antioxydantes puissantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et gastro-intestinales, leurs intégrations dans le régime alimentaire humain peuvent être très utile pour la prévention contre plusieurs maladies comme le cancer, les maladies circulatoires et les infections (**Makkar, 2007 ; Sistti et al., 2008 ; Niaz et al., 2017**).

Introduction

Pour cela, le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des feuilles de *R. ulmifolius* en identifiant ses composés phytochimiques et en évaluant leurs activités biologiques.

A cet égard, ce mémoire a porté sur un premier chapitre, une généralité sur les activités biologiques suivi de la classification des métabolites secondaires.

Dans le deuxième chapitre, une synthèse bibliographique sur les caractéristiques de la plante sélectionnée *Rubus ulmifolius* S., sa description botanique, sa composition ainsi que sa répartition dans le monde et ses effets thérapeutiques appuyés par des travaux antérieurs.

Dans la dernière partie, quatre articles scientifiques ont été choisis en fonction du thème abordé qui comporte l'activité antioxydante, l'activité antiproliférative, anti-inflammatoire et l'activité antimicrobienne.

Enfin, nous avons discuté les résultats des différentes recherches dans une discussion générale et finaliser ce manuscrit par une conclusion.

Partie 1 :
Synthèse bibliographique

I. Définition des activités biologiques

Les plantes médicinales peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs, Capable de prévenir, soulager ou guérir plusieurs maladies. Selon de nombreuses études, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques tels que les activités antioxydante, anti-inflammatoire, anticoagulante, antiproliférative, antivirale, antimicrobienne... (**Bakli, 2020**).

I.1 Activité antioxydante

L'oxydation est un processus important dans le métabolisme des cellules aérobies *in vivo*. Il s'agit de molécules d'oxygène dont la production par des voies métaboliques incontrôlées conduit à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), telles que les radicaux libres. Ces radicaux sont impliqués dans le stress oxydant qui est caractérisé par un déséquilibre entre la production des ERO (prooxydants) et l'élimination de ces espèces par le mécanisme de défense antioxydante (**Al-Laith, 2010 ; Codoñer-Franch et al., 2011 ; Rashid et al., 2013**). Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (vieillesse), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines, ...) ou bien d'une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants qui contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant. Le stress oxydant peut engendrer l'endommagement de molécules comme les lipides, l'ADN, les glucides et les protéines (**Swain et al., 2002**).

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui a pour effet d'inhiber ou de ralentir les réactions d'oxydation (**Bensakhria, 2018**). On peut citer les antioxydants exogènes piègeurs qui proviennent de l'alimentation comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), les caroténoïdes ou les polyphénols et les antioxydants endogènes synthétisés à partir des cellules de l'organisme. En effet, en tant qu'antioxydant, les polyphénols peuvent protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs et ainsi limiter le risque de diverses maladies dégénératives associées au stress oxydatif (**D'Archivio et al., 2007**). Ces antioxydants sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène. Comme l'inflammation, le stress oxydant est un phénomène impliqué dans maintes maladies. La variété des conséquences médicales ne doit pas surprendre, car ce stress sera, selon les cas, localisé à un tissu et à un type cellulaire

particulier et mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et s'associera avec d'autres facteurs pathogènes ou des anomalies génétiques spécifiques et individuelles. Le stress oxydant sera la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (**Favier, 2006**).

I.2 Activité antimicrobienne

Les maladies de provenance alimentaire sont généralement causées par l'ingestion d'aliments contaminés soit à travers des toxines produites par des micro-organismes soit par des micro-organismes (**Friedman, 2017**).

La contamination microbienne est l'un des défis majeurs auxquels est confrontée l'industrie agroalimentaire, car elle peut être nuisible à la qualité des aliments, ce qui va engendrer des pertes économiques et des déchets (**Kumar et Brooks, 2017**). Du fait que le nombre de microorganismes multi résistants augmente, il y a une grande inquiétude que plusieurs antibiotiques deviendront inefficaces. Alors, la découverte et le développement de nouveaux agents antimicrobiens sont grandement recherchés. C'est pourquoi, plusieurs scientifiques à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens commencent à porter une attention particulière aux végétaux (**Hopley et Schalkwyk, 2006**).

Un agent antimicrobien est une substance capable de provoquer la mort des cellules du micro-organismes pathogènes ou d'empêcher leur reproduction. Le terme « agent antimicrobien » est un terme qui englobe tous les agents antibactériens, antifongiques, antiviraux et antiparasitaires (**Sili cycle, 2017**). Ils affectent la viabilité des cellules de bactéries, champignons (levures et moisissures) et autres pathogènes par différents mécanismes d'action, dans tous les cas, les antimicrobiens agissent sur des processus essentiels à la survie ou à la prolifération du ou des microorganismes ciblés (**sohn et al., 2004**).

Il existe de nombreux composants présents dans les plantes qui possèdent une propriété antimicrobienne et ce sont principalement des métabolites secondaires tels que les phénols, les alcaloïdes, terpènes, alcools aliphatiques, aldéhydes, cétones, acides, isoflavonoïdes et plus encore qui permettent d'assurer le mécanisme de défense des plants contre des microorganismes pathogènes (**Hayek et al., 2013**). Les infections provoquées par les champignons (*Aspergillus*) ou les levures (*Candida*) qui sont appelées aussi les mycoses sont devenues un réel problème de santé publique. Elles sont de plus en plus difficiles à les inactiver et leurs fréquences sont en très forte progression (**Garrigues et coll., 1996**). Les parties aériennes de certaines espèces de Rubus composés de flavonoïdes (quercétine, acide caféique, acide chlorogénique), d'acides

gras insaturés ou saturés présente une activité antifongique élevée (Tzouwara et al., 1981 ; McCutcheon et al., 1994).

I.3 Activité anti-inflammatoire

La réponse inflammatoire est un processus physiologique par lequel le corps se défend contre une attaque qui entraîne des lésions tissulaires. Son but est de diriger les molécules sériques et les cellules du système immunitaire vers le site des lésions tissulaires pour éliminer les agressions du reste du corps et permettre à la réparation tissulaire de se dérouler le plus rapidement possible (Winyard et al., 2000).

L'inflammation affecte 1% de personnes dans le monde et peut provoquer des pathologies et causer des mortalités (Pandey et al., 2013). Elle peut-être nocive en raison de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, de la localisation de l'inflammation mais aussi du dérèglement du processus inflammatoire, ou de type, ou de la quantité anormale des cellules impliquées (Medzhitov, 2008 ; Mittal et al., 2014).

Il existe des composés naturels à activité anti-inflammatoire et immunomodulatrice comme les composés phénoliques qui sont utilisés depuis longtemps. Il a récemment été suggéré comme alternative pour prévenir ou traiter les maladies inflammatoires chroniques. Cela est dû à ses multiples propriétés car il régule les activités cellulaires dans les cellules impliquées dans l'inflammation, module l'activité et la production de molécules pro-inflammatoires, ainsi que module l'expression des gènes pro-inflammatoires (García-Lafuente et al., 2009).

I.4 Activité hypoglycémiant

Le diabète sucré est un problème de santé grave avec des taux d'incidence et de mortalité en constante augmentation. Il se caractérise par des concentrations plasmatiques élevées de glucose résultant d'une insuffisance d'insuline ou d'une résistance à l'insuline, ou des deux, entraînant des anomalies métaboliques des glucides, des lipides et des protéines. Les effets des plantes peuvent retarder le développement de complications diabétiques et même aider à corriger les anomalies métaboliques (Alberti et Zimmet, 2008).

De nombreux mécanismes d'actions ont été proposés certaines hypothèses portent sur leurs effets sur l'activité des cellules β pancréatiques ou sur l'augmentation de l'effet protecteur/inhibiteur contre l'insulinase et l'augmentation de la sensibilité à l'insuline ou de l'activité analogue à l'insuline de la plante extraite. D'autres mécanismes peuvent impliquer une

amélioration de l'homéostasie du glucose (augmentation de l'utilisation périphérique du glucose, augmentation de la synthèse de glycogène hépatique et/ou diminution de la glycogénolyse agissant sur les enzymes, inhibition de l'absorption intestinale du glucose, réduction de l'indice glycogénique des glucides, réduction de l'effet du glutathion Toutes ces actions peuvent être responsables de la réduction et ou de l'abolition des complications du diabète (**Chauhan et al., 2010**).

I.5 Activité anticoagulante

Le système hémostatique comprend l'agrégation plaquettaire, la coagulation et la fibrinolyse. En tant que mécanisme de défense de l'hôte, il préserve l'intégrité du système circulatoire fermé à haute pression chez les mammifères en cas de lésion vasculaire (**Furie, 2007 ; Chen et al., 2015**). Le processus de coagulation est le résultat de réactions séquentielles dans lesquelles la thrombine en tant qu'enzyme finale convertit le fibrinogène soluble en fibrine insoluble (**Kishore et al., 2013**). La dérégulation de la cascade de la coagulation et la formation subséquente de caillots de fibrine intra-alvéolaires ou systémiques ont été démontrées chez l'homme et les modèles animaux et constituent les principales découvertes dans les infections à coronavirus associées à une maladie respiratoire sévère (**Giannis et al., 2020**). Le système de coagulation est un processus essentiel pour stopper les saignements excessifs et prévenir les déséquilibres homéostatiques, cette coagulation est un facteur qui constitue une cause importante dans différentes maladies telles que les accidents vasculaires cérébraux infections virales et les épidémies comme le covid 19 (**Alikhani et al., 2017 ; Ackermann et al., 2020**).

I.6 Activité cancéreuse

Les cancers apparaissent généralement comme des tumeurs formées par une masse cellulaire au niveau de l'organisme et qui consiste à un aboutissement d'une série de prolifération incontrôlée et des transitions pouvant s'étendre sur plusieurs années. Ainsi, la cancérogenèse est un processus complexe à plusieurs séquences qui conduit les cellules d'un état sain à un état précancéreux et enfin à un stade précoce du cancer (**Pincemail et al., 1999**). Depuis plusieurs années, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments et des habitudes alimentaires dans le développement des cancers et après de nombreuses expérimentations ils ont directement associé le cancer à l'alimentation étant donné que des recherches développementales ont approuvé que les flavonoïdes sont des métabolites permettant de retarder ou de diminuer l'apparition de certains cancers (**Decloitre, 1993 ; Hertog et al., 1996**).

I.7 Activité antivirale

Les infections virales représentent l'une des principales causes de maladies dues à leur complexité et leur diversité, qui rendent très difficile la lutte contre leurs effets et leur diffusion, qui conduisent souvent à des événements pandémiques (**Drexler, 2010**). Les virus sont caractérisés par un génome (soit ARN, soit ADN) entouré d'une enveloppe protéique ou lipidique (**Cohen, 2016**), qui utilise le mécanisme de reproduction des cellules pour provoquer des verrues, rhumes, fièvres, voire la mort (**Tapparel et al., 2013**). Ils montrent de nombreuses stratégies d'invasion sur les cellules hôtes en raison de leur variation génétique et de leur réplication efficace liées aux ressources de l'hôte (**Cohen, 2016**). Les mécanismes de défense de l'organisme contre les attaques virales (composé de cellules et de métabolites) impliquent à la fois les mécanismes innés et cellulaires du système immunitaire. De plus, l'échec de plusieurs médicaments contre les infections virales et l'apparition de résistances virales spécifiques à conduire un intérêt croissant pour les plantes en tant qu'antiviraux prometteurs (**Irwin et al., 2016**). Plusieurs plantes, huiles essentielles ainsi que des composés bioactifs isolés, tels que les composés phénoliques, flavonoïdes, terpènes, lignanes, coumarines, alcaloïdes ou protéines ont montré un rôle potentiel en tant qu'agents antiviraux (**Daglia, 2012**).

II. Les métabolites secondaires

II.1 Les plantes médicinales

Depuis longtemps l'utilisation des plantes médicinales était connue pour améliorer et guérir la santé de l'homme, ce savoir traditionnel ancestral est devenu de nos jours une mine d'informations précieuses pour tout chercheur de l'industrie pharmaceutique (**Lazlie et al., 2019**). Elles constituent un groupe numérique vaste et contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies. Outre leur utilisation comme remède direct et on les emploie aussi dans l'industrie cosmétique (**Volak & Stodola, 1984**). L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales. Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé (**Jiofack et al., 2010**). Les parties utilisées sont essentiellement les feuilles, les fruits et les racines. Pour les arbres et arbustes, les écorces sont également employées pour la préparation des recettes. Certaines plantes médicinales utilisées comme diurétique et astringente et dans le traitement des blessures, des rhumatismes, de la fièvre et des douleurs (**Hamel et al., 2018**).

Les méthodes les plus fréquentes sont : l'infusion (42,5%), puis vient la décoction avec (40%) et la poudre avec (20%). La majorité des remèdes pour traiter les maladies gastriques, cardiovasculaires et urogénitales sont préparés essentiellement par infusion (**Daoudi et al., 2015**).

II.2 Les principes actifs des plantes médicinales

L'action des plantes médicinales sur l'organisme est dû à un ou plusieurs principes actifs que l'on doit analyser et connaître afin de comprendre leur méthode de fonctionnement :

Le métabolisme des plantes peut être séparé en voies primaires, présentent dans toutes les cellules et qui traitent la production et le stockage de l'énergie et les principales biomolécules communes à toutes les formes vivantes ; et les voies secondaires, qui sont responsables de la production d'une grande variété de composés qui possèdent des activités spécifiques telles que la protection. Les principales voies primaires concernent le métabolisme des glucides, des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En revanche, les métabolites secondaires (par exemple, terpènes, alcaloïdes, composés phénoliques et composés apparentés) sont produits par les voies des acides shikimique, malonique et mévalonique, ainsi que par la voie du phosphate de méthylérythritol (**De La Rosa et al., 2019**).

II.3 Classification des métabolites secondaires

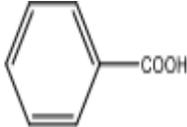
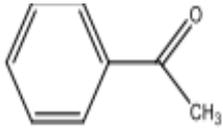
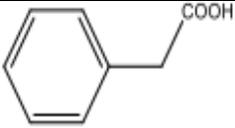
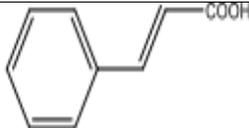
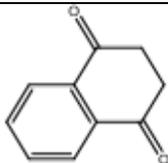
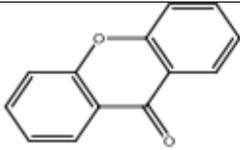
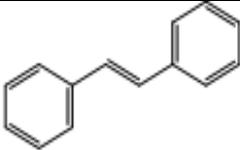
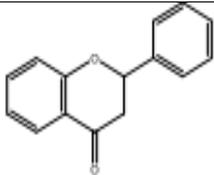
II.3.1 Composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et que l'on retrouve dans les racines, les feuilles, les fruits et écorce. L'arôme et la couleur des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Dans la nature, ces composés sont retrouvés généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides (**D'archivio et al., 2007**). Les principales classes des composants phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique...), les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (**King et Young, 1999 ; Tapiero et al., 2002**). Tous les composés phénoliques contiennent au moins un cycle aromatique avec un groupe hydroxyle dans leur structure. Ils présentent différentes activités dans la plante telles que le soutien structurel et la protection contre le rayonnement solaire ultra violet (UV), les stress biotiques ou abiotiques, les agents pathogènes, herbivores... (**De La Rosa et al., 2019**).

✓ Les acides phénoliques

Sont les formes les plus simples, ils contiennent un seul groupe phényle substitué par un groupe carboxylique et un ou plusieurs groupes OH (**Tableau 01**). Les acides phénoliques peuvent être divisés en acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques et autres acides hydroxyphényles (acétique, propanoïque et pentaénoïque), la différence entre eux est par la longueur de la chaîne contenant le groupe carboxylique. Les acides hydroxybenzoïques les plus courants, peuvent être trouvés dans de nombreux fruits, légumes et autres produits comestibles. Les baies, les noix, le thé, la chicorée et certaines épices sont de bonnes sources de ces composés. Les acides hydroxybenzoïques sont rarement présents sous leur forme libre, ils apparaissent couramment glycosylés, liés à de petits acides organiques (quiniques, maléiques ou tartriques) ou liés à des composants structuraux des cellules végétales (cellulose, protéines ou lignine) (**De La Rosa et al., 2019**).

Tableau 1. Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006)

N° de C	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénones	Gallacétophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

✓ Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde, de flavus « jaune » en latin, constitue une très large gamme de composés naturels, occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols (**Bouakaz, 2006 ; Abedini, 2013**). Les flavonoïdes se sont des pigments poly phénoliques qui contribuent entre autres à la coloration des fleurs et des fruits en blanc ou jaune (**Crozier et al., 2006**). Leur squelette chimique commun possède 15 atomes de carbones, constitué de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un cycle pyranique central C (**Tapas et al., 2008**). Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C (**Figure1**).

Les flavonoïdes sont divisés en sous classes, les plus importants sont les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavonols, les dihydroflavonols, les chalcones, les anthocyanes et les aurones (**Tableau 2**). Ils sont plus concentrés dans les fruits, les légumes, les vins, les thés et le cacao (**Heim et al., 2002 ; Bruneton, 2009**).

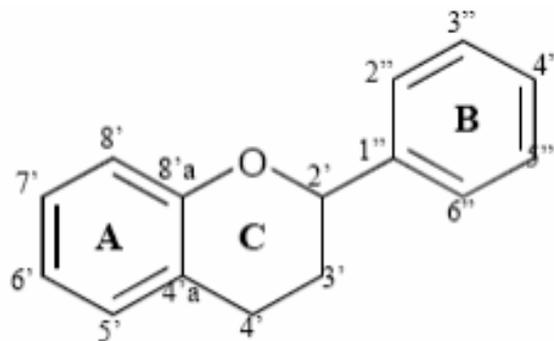
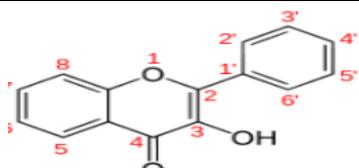
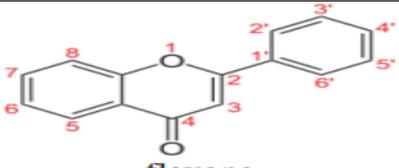
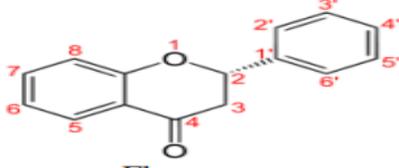
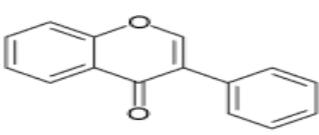
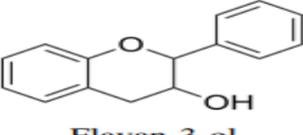
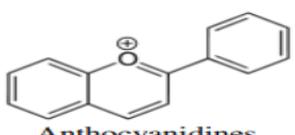
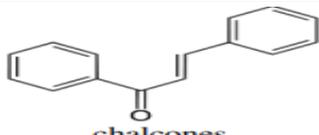
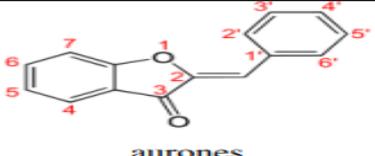


Figure 1. Structure de base des flavonoïdes (**Harborne, 2000**)

Tableau 2. différentes classes des flavonoïdes (Bruneton, 2009).

Structure des différentes classes de flavonoïdes	Exemple	Substitutions 5 6 7 3' 4' 5'
 <p>Flavonols</p>	Kaempférol Quercétine Myricétine	OH H OH H OH H OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH
 <p>flavone</p>	Apigénine Chrysin Lutéoline	OH H OH H OH H OH H OH H HH OH H OH OH OH H
 <p>Flavanones</p>	Hespéridine Naringénine	OH H OH OH H OH H OH H OH H
 <p>Isoflavone</p>	Daidézéine Génistéine	OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH
 <p>Flavan-3-ol</p>	Catéchine Gallocatéchine	H H OH H OH H OH H OH H OH H
 <p>Anthocyanidines</p>	Pélargonidine Cyanidine Delphinidine	OH H OH H OH H OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH
 <p>chalcones</p>	Buteine	
 <p>aurones</p>	Aureusidine	

✓ **Les anthocyanes**

Les anthocyanes constituent une sous-famille de flavonoïdes particulièrement importante car ce sont, avec les chlorophylles et les caroténoïdes, les principaux pigments végétaux, elles se distinguent par la nature des sucres impliqués dans leurs structures (**Figure 2**) (**Goto et Kondo, 1991**). Dans un anthocyanane, la partie responsable de la couleur (chromophore) s'appelle l'anthocyanidine, ce sont elles qui sont responsables des couleurs éclatantes de certains fruits (raisins rouges, framboises, cerises), de fleurs (coquelicots, géraniums) ou des couleurs rouges des feuilles d'érable à l'automne. Leurs présences dans les feuilles ont surtout pour but d'absorber le rayonnement UV qui pourrait être dangereux pour les cellules (**Dangles, 1994**).

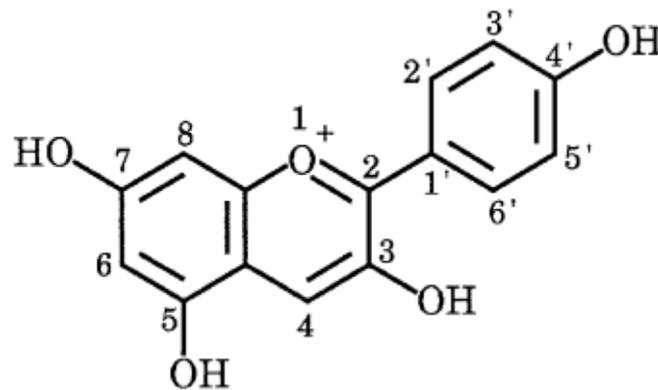


Figure 2. Structure des anthocyanes (**Dangles, 1994**)

✓ **Les tanins**

Ce sont des composés phénoliques très répandues dans le règne végétal (**Cheyrier, 2005**). Les tanins possèdent diverses activités biologiques. Ils sont considérés comme des agents anti-inflammatoires, antiviraux, antibactériens et antimicrobiens (**Chavan et al., 2001 ; Awika et Rooney, 2004**). Les tanins se sont des macromolécules qui se divisent en deux groupes distincts selon leur structure :

Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont très répandus dans les plantes. Ils sont composés par des esters du D-glucose et on distingue deux types : tanins galliques et tanins ellagiques montrer dans la **figure 3**. On peut par exemple les retrouver dans les framboises et les noix (**Muellerharvey, 2006**).

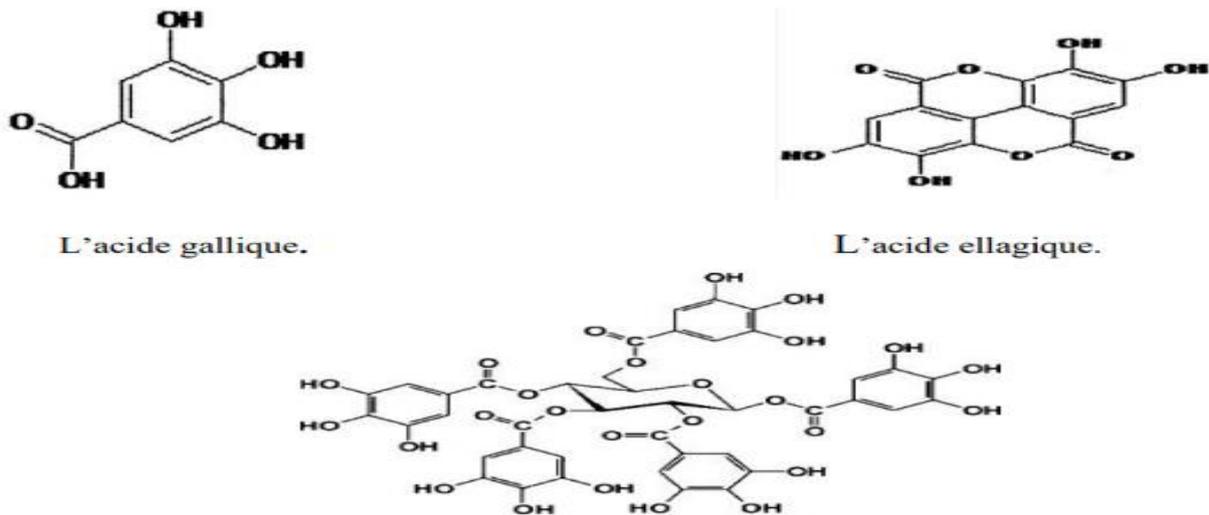


Figure 3. Structure de bases des tanins hydrolysables (**Muellerharvey, 2006**).

Les tanins condensés

Ou appelé aussi pro anthocyanidines sont des antioxydants dotés d'un fort pouvoir protecteur capable de prévenir certaines maladies cardiovasculaires (**Peronny, 2005**). La structure des tanins condensés est voisine de celle des flavonoïdes qui est caractérisée par l'absence de sucres (**Figure 4**) (**Boudjouref, 2011**).

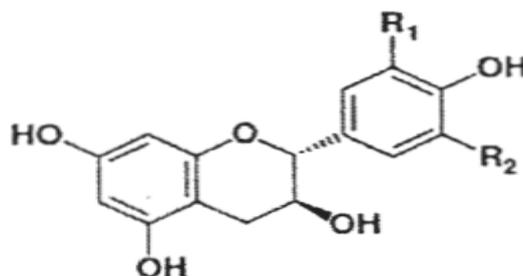


Figure 4. Structure de base des tanins condensés (**Brunton, 1993**)

II.3.2 Les alcaloïdes

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

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

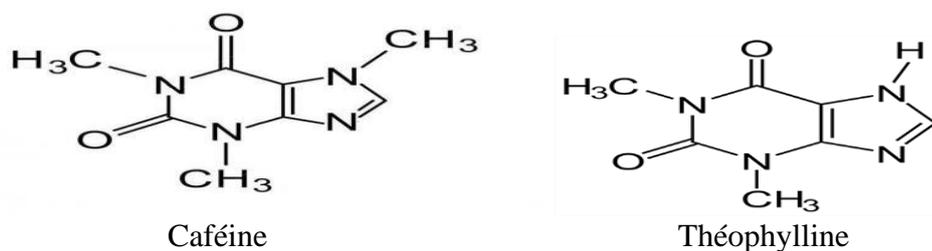


Figure 5. Structure de quelques alcaloïdes (Ziegler et Facchini, 2008)

II.3.3 Les terpènes

Avec près de 15000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus diversifiée de composés organiques végétaux (Wilhelm, 1995). Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, ils sont constitués de structures soit sous forme cyclique soit en chaîne ouverte et la molécule de base est l'isoprène de formule C₅H₈ (Bezzaz, 2014) (Figure 6). On peut classer les terpènes en cinq classes : mono terpènes, sesquiterpènes, diterpènes, tri terpènes et les huiles essentielles (Richter, 1993). Ces composés sont en grande partie d'origine végétale. Ils sont synthétisés par les plantes, les champignons, les organismes marins et même par les animaux. (Benaissa, 2011).

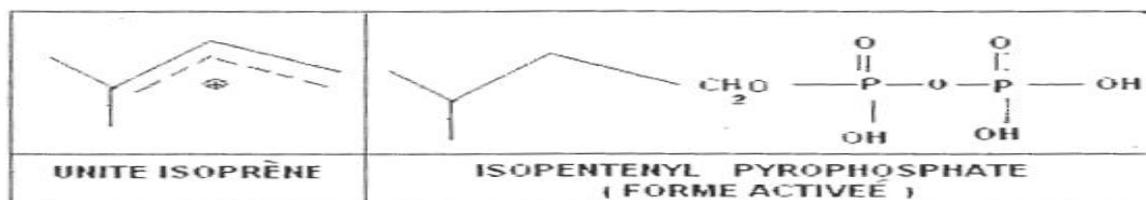


Figure 6. Structure de base des terpènes (Richter, 1993)

Chapitre II :
Rubus ulmifolius S.

I. Présentation du *Rubus ulmifolius* S.

I.1 La famille des Rosacées

La famille des rosacées fait parties des plantes les plus importantes sur le plan économique dans les régions tempérées et comprend plus de 100 genres et environ 3000 espèces. Le genre *Rubus* comprend 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, 2017).

I.2 Le genre *Rubus*

Le genre *Rubus* est composés de trois sous-genres :

1 : les framboises avec leurs fruits rouges recouvert de nombreux poils courts. <Sous-genre *Idaeobattus*<

2 : c'est le petit *Rubus* qui donne des fruits rouges vifs< sous-genre *Cylactis*<

3 : sous-genre des ronces appelé mûres < sous-genre *Rubus*< (Folta et Gardiner, 2009 ; Hummer, 2010).

I.3 Présentation et origine

Rubus ulmifolius S. connu sous le nom de mûre à feuilles d'orme, BlackBerry en anglais, et Zarzamora en espagnol (Mazzolari et al., 2011). C'est un arbuste vivace complexe et variable due aux conditions environnementales. Il est cultivé dans des sols sauvages, fleurit de mai jusqu'à aout, ses fruits sont appelés les mûres, se distinguent sous forme de plusieurs agrégats de drupes succulentes et changent de couleur du vert au noir en phase de maturité (Da silva et al., 2019). Cette espèce produit des mûres comestibles, qui sont de type granuleux, globuleux et de saveur acidulée (D'Agostino et al., 2015).

Tableau 3. Présentation et description générale de *Rubus ulmifolius* S. (Site 1).

Type biologique : Nanophanérophytes (2 à 4m), Hémicryptophytes (>= 1m) ruboïdes	
Formation végétale : Nanophanérophyte	
Chorologie : méditerranéen-atlantique	
Inflorescence : racème de racèmes	Sexualité : hermaphrodite
Fruit : drupe	Pollinisation : entomogame
Couleur de la fleur : rose	Dissémination : endozoochore
Floraison : de juin à aout	

I.4 Répartition et climat

Le *Rubus ulmifolius* S. est un arbuste situé dans le secteur ouest-méditerranéen subatlantique, cette ronce s'observe en grande partie en Europe, du Portugal jusqu'à l'ouest de l'Allemagne, au nord sur la bordure ouest jusqu'au milieu du Royaume-Uni et disparaît rapidement vers l'est. Elle est également très considérable et abondante dans tout le nord du Maghreb mais aussi en Afrique du Sud, Amérique du Nord, le sud-est de l'Australie et Nouvelle-Zélande et quelques pays en sud d'Asie, comme le montre la carte géographique (**Figure 06**). Selon les conditions climatiques dans le monde, le Rubus est majoritairement présent dans les régions d'une moyenne pluviosité et peut même s'adapter aux régions d'une pluviosité plus importante, de ce fait il préfère un système hydrologique moyen qu'un système hydrologique sec, quant au sol, il n'a pas une influence primordiale sur le Rubus mais il préfère légèrement les sols acides que calciques accompagner d'un pH qui varie entre 5 et 7 ainsi que les emplacements ouverts et les endroits ensoleillés ou semi ombrés ou il maintient une ambiance humide (**kurtto et al., 2010 ; Ferrez et Royer, 2016**).

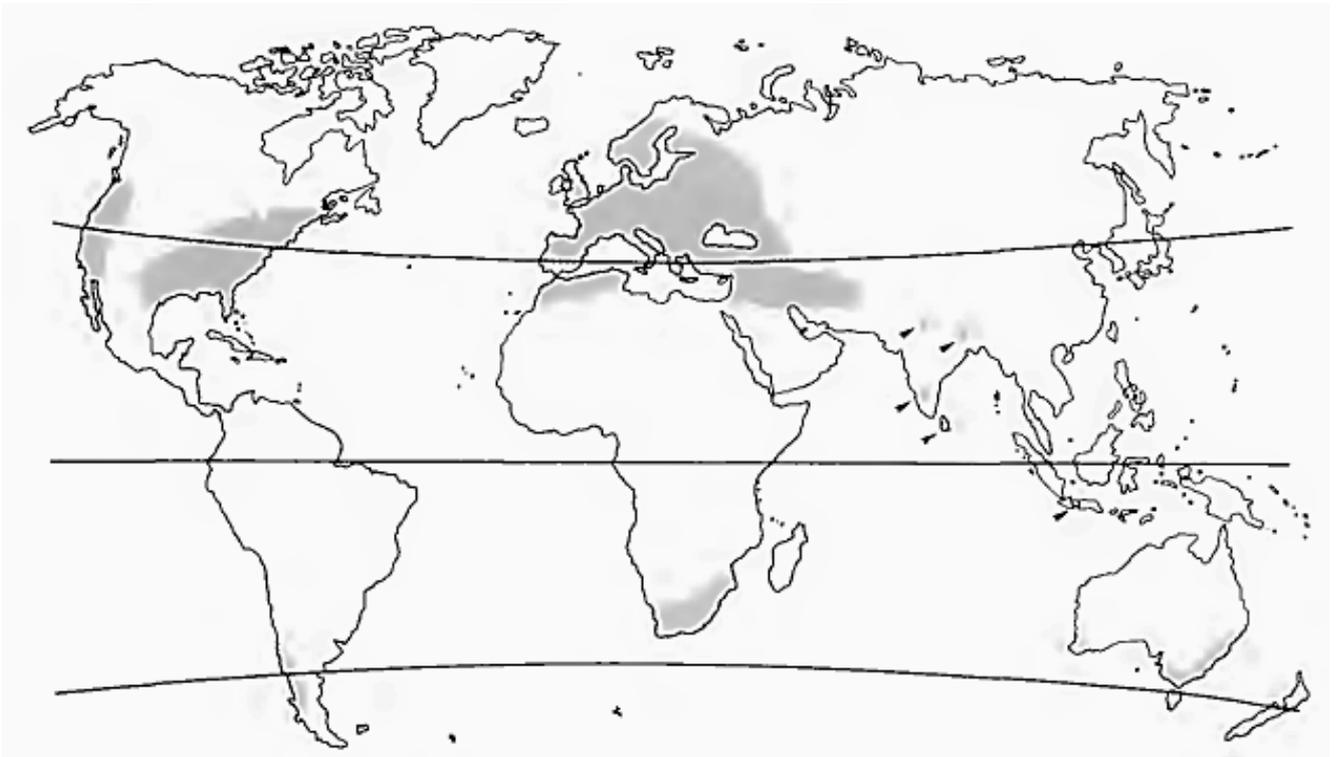


Figure7. Répartition mondiale de la ronce (**Wehrlen, 1985**)

I.5 Description et classification botanique de *Rubus ulmifolius* S.

La partie aérienne du *Rubus ulmifolius* S. 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 8**).

Les fleurs de cette espèce 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 arrondi 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 (**Figure 9**).

Les feuilles sont majoritairement caduques, de formes convexes, disposées en éventail, la plupart est de 3 à 5 folioles voire un seul, pédalés et digités, chaque foliole est insérée sur la foliole voisine, la face supérieure est d'une couleur verte poilue et glabrescente, face inférieure est plus claire d'une couleur blanche tomenteuse dépourvue de poils (**Figure 10**).

En ce qui concerne les fruits (**Figure 11**), ils sont très nombreux, 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, 2016 ; Belahcen et al., 2021**).



Figure 8. Turion et aiguillons
(Ferrez et Royer, 2016)



Figure 9. Détails de la fleur
(Site 2)



Figure 10. Face supérieure des feuilles
(Site 2)



Figure 11. Détails du fruit mûre
(Site 2)

Tableau 4. Classification botanique de *Rubus ulmifolius* S. (Boukef, 1986)

Règne	Plante
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermatophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	Rubus
Espèce	Rubus ulmifolius

I.6 Composition de *Rubus ulmifolius* S.

Le contenu et la composition en polyphénols, dans le genre *Rubus*, sont déterminés par plusieurs facteurs (**Samuel-peterson, 2013**) :

- ✓ Génétique
- ✓ Environnement
- ✓ Méthode de culture
- ✓ Climat
- ✓ Période de cueillette

Temps et conditions de stockage

Les baies sont des composants indispensables pour une alimentation saine, fournissant un large éventail de substances telles que les fibres alimentaires, minéraux, vitamines et autres nutriments essentiels (**De Souza et al., 2014 ; Nile et Park, 2014**).

Les mûres sont consommées fraîches ou sous forme de produits dérivés (confitures, jus, compléments alimentaires et bien d'autres) pour leur goût délicieux. Ils sont source de composés phénoliques comme les anthocyanes, flavonols et ellagitanins, leur ingestion contribue donc à un régime équilibré (**Bandeira et al., 2016**).

Tableau 5. Composition chimique du fruit de *Rubus ulmifolius* S. (**Hager et al., 2008 ; Sariburun et al., 2010**)

Fibre	
Vitamine C et K	
Minéraux	
Composés phénoliques :	
Tannins condensés (Pro-anthocyanes)	Flavan-3ols
Tanins hydrosolubles (Ellagitanins)	Anthocyanine
Quercétine	Cyanidines
Flavonoles : rutine, acide ellagique, kaempferol	

II. Utilisation thérapeutique de *Rubus ulmifolius* S.

Les utilisations de l'espèce *Rubus* en médecine traditionnelle sont basées sur ses usages ethnomédicinaux (**Patel-Schneider et al., 2004**). Différentes espèces de *Rubus* synthétisent plusieurs variétés de substances phytochimiques médicalement actives. En médecine traditionnelle, il est utilisé pour le traitement des coliques et des plaies dans de nombreux pays. L'extrait de fruits de la framboise sauvage est utilisé comme diurétique (**Zhang et al., 2011**). Les fruits d'autres espèces comme *Rubus coreanus* sont aphrodisiaques, anti-inflammatoires (**Park et al., 2011**), antibactériens (**Chins et al., 2002**), antioxydants (**Ju et al., 2009**), antiallergiques (**Park et al., 2003**), et anticancéreux (**Kim et al., 2005**). Traditionnellement, *Rubus fruticosus* a été utilisé pour le traitement des maladies de la peau, des démangeaisons, de la gale et de l'eczéma (**Sher, 2011**). Dans Les médecines traditionnelles italiennes, *Rubus ulmifolius* S. a été utilisé pour le traitement des ulcères, des abcès, des furoncles, des rougeurs yeux, troubles vaginaux, inflammations intestinales, diarrhée et hémorroïdes (**Manganelli et Tomei, 1999**). Il est également utilisé comme antipyrétique et agent carminatif. Dans la médecine populaire chilienne, il est utilisé pour l'activité hypoglycémiante (**Ahmed et al., 2013**).

III. Propriété biologique de *Rubus ulmifolius* S.

La mûre sauvage est une source importante de composés phénoliques (les tanins, les flavonoïdes, les anthocyanes et les ellagitanins). Ces composés phytochimiques naturels présentent une large gamme d'effets comprenant des activités biologiques notamment antioxydantes, anti-cancérigènes, anti-inflammatoires, antibactériennes, antimicrobiennes, hypoglycémiques (**Ahmad et al., 2015**).

Travaux antérieurs

III.1 Activité antioxydante

Les mûres sont reconnues comme étant de bonnes sources de composés phytochimiques bioactifs, en particulier en composés phénoliques, et ces composants sont majoritairement associés à la capacité antioxydante (**Yang et Choi, 2017**). De plus, ces composés peuvent inhiber la production des radicaux libres et donc améliorer la capacité antioxydante endogène des cellules et influencer la signalisation des voies d'interaction avec les enzymes et les récepteurs cellulaires (**Giovinazzo et Grieco, 2015**).

Ahmed et al., (2015) ont mesuré l'activité de piégeage des extraits méthanoliques de *R. ellipticus*, *R. niveus* et *R. ulmifolius* et cela grâce au test DPPH. Le composé DPPH est un radical libre utilisé pour mesurer l'activité antioxydante d'une substance par sa capacité de piéger les radicaux libres du DPPH. Selon cette étude la capacité antioxydante la plus élevée a été démontrée par la mûre *R. ulmifolius* (98,9 % à 400 µg/ml).

Les résultats obtenus ont montré que la capacité antioxydante des baies de Rubus est associée avec les composés phénoliques, mais aussi avec d'autres antioxydants (acide ascorbique, caroténoïdes et vitamine E) trouvée dans ces fruits (**Schulz and Chim, 2019**).

Une autre étude menée par des chercheurs sur l'évaluation des propriétés antioxydantes de 11 plantes utilisées dans la médecine populaire de Sardaigne (Italie) sous forme de thés ou de décoctions, pour le traitement de plusieurs maladies a rapporté que sur les 11 espèces utilisées en médecine traditionnelle ont montré que certaines possèdent une remarquable activité anti-radicalaire. En particulier, l'extrait de *R. ulmifolius* qui a montré le plus haut pouvoir antioxydant par rapport à celui d'autres extraits et ceci par les différentes méthodes *in vitro* utilisés (BR, DPPH, TEAC). Sa forte capacité antioxydante pourrait être liée, au moins en partie, à l'activité de l'acide caféique, de l'acide férulique et des esters quiniques caféiques ainsi qu'au curonide de quercétine-3-O-glu, kaempférol-3-Oglucuronide trouvés dans cet extrait. D'autres études sont nécessaires pour étudier les propriétés pharmacologiques *in vivo* de cet extrait car, avec sa haute activité, *R. ulmifolius* pourrait être considéré comme un nouvel ingrédient antioxydant possible pour le marché des nutraceutiques ou des aliments fonctionnels (**Dall'Acqua et al., 2007**).

III.2 Activité antimicrobienne

Le potentiel antimicrobien des sources naturelles a été étudiés, y compris pour les framboises et les mûres du genre Rubus. Ainsi, considérant que les propriétés antimicrobiennes des baies sont attribuées principalement grâce à la présence d'ellagitannins (**Krauze-Baranowska et al., 2014**).

Pour la mûre *R. ulmifolius*, des extraits méthanoliques ont été étudiés sur 6 souches bactériennes (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus agalactiae* et *Candida albicans*) (**Hajaji et al., 2017**). Les extraits testés ont montré un bon effet contre tous les agents pathogènes, en particulier *E. coli*, *S. agalactiae* et *C. albicans* avec des zones d'inhibition de 28, 50 et 39 mm, respectivement. Par contre, *S. aureus* et *E. faecium* étaient moins sensibles aux extraits testés. Des études d'activité antimicrobienne ont été réalisées

uniquement pour *R. ulmifolius* et quelques autres genres de mûres *Rubus*. Toutes ces études prouvent que le potentiel antimicrobien des mûres *Rubus* est principalement lié aux composés phénoliques de ces fruits. Néanmoins, d'autres études impliquant l'isolement et l'identification des composés responsables de cette activité sont nécessaires. Aussi, il est important de préciser que les études faites sur l'activité antimicrobienne ont des limites associées à la bio accessibilité des composés (**Schulz & Chim, 2019**).

Une autre étude traitant sur la carie dentaire qui est souvent liée à de mauvaises habitudes alimentaires et de vie d'une part et d'autre part, dû à une mauvaise condition socio-économique. De nombreuses recherches visent à la découverte ou à la synthèse d'un médicament anti-caries idéal. À l'heure actuelle, une telle pathologie, liée à un biofilm polymicrobien, impose l'élimination mécanique comme seule thérapie efficace temporaire contre ce problème de santé, et une procédure antimicrobienne avec des composés antibactériens innovants est fortement demandée pour le contrôle de la plaque dentaire. Des chercheurs ont étudié l'activité antibactérienne de différents extraits de feuilles séchées de *R. ulmifolius* contre la bactérie cariogène *Streptococcus mutans*, le principal microorganisme impliqué dans la formation et la progression des caries. Des méthodes standard antimicrobiennes (MIC, MBC, MBIC) ont été réalisées pour évaluer le profil antimicrobien de chaque extrait. De plus, le profil qualitatif des acides gras (AG) des extraits de feuilles de *R. ulmifolius* a été évalué par analyse HPLC-DAD/ELSD en phase inverse. Les résultats ont montré que le comportement de cette bactérie avec différents extraits était strictement lié au type de méthode d'extraction, même s'il n'était pas lié à la quantité et à la composition des acides gras. Ces résultats préliminaires encouragent d'autres études pour l'utilisation de *R. ulmifolius* dans des bains de bouche ou des dentifrices avec une grande activité anti-caries (**Porcedda et al., 2021**).

III.3 Activité anti-inflammatoire

Une étude dont l'objectif était la détermination et le développement des propriétés anti-inflammatoires de *R. ulmifolius* ainsi que l'identification phytochimiques basés sur l'extraction des composés phénoliques de la plante (partie aérienne) à travers une macération de la poudre de feuilles de *R. ulmifolius* dans l'éthanol a révélé la présence de quatre composés phytochimiques dotés d'activités biologiques : les alcaloïdes dans la plante entière, les flavonoïdes et saponines uniquement au niveau de la partie aérienne, et les stéroïdes.

Ensuite, vient l'étude des effets anti-inflammatoires de ces 4 métabolites secondaires sur l'œdème de l'oreille provoqué par l'huile de croton et la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique selon les méthodes de **Pandey et al, (2013)**.

Cet extrait méthanolique mène à une diminution significative du développement de l'œdème ce qui correspond à une réduction de l'inflammation, ce mécanisme est basé sur l'inhibition de la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires. Selon une autre étude de **Valenzuela-Barra et al, (2015)** l'extrait méthanolique du *Rubus* qui contient des flavonoïdes agit sur l'expression et l'activation de plusieurs enzymes et des cytokines inflammatoires comme les IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, du coup les composés phénoliques exercent une activité anti-inflammatoire importante et significative.

La perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique est un modèle qui permet de connaître l'effet des substances naturelles sur la phase exsudative de la réaction inflammatoire aiguë, sachant que l'acide acétique provoque une dilatation des artérioles et des veinules et une augmentation progressive de la perméabilité vasculaire qui est considérée comme un processus essentiel dans la réaction inflammatoire (**Okoli et al., 2017 ; zhou et al., 2017**).

Le traitement des souris par l'extrait éthanolique du *R. ulmifolius* entraîne une inhibition significative de la perméabilité vasculaire indiquant que cet extrait a la capacité d'adapter et contrôler la réaction inflammatoire et cela montre aussi que cette plante possède un fort pouvoir de soulager diverses maladies inflammatoires d'après les travaux de **Pandey et al (2013)**.

III.4 Activité antifongique

Les parties aériennes de certaines espèces de *Rubus* composés de flavonoïdes (quercétine, acide caféique, acide chlorogénique), d'acides gras insaturés ou saturés, présentent une activité antifongique élevée (**Tzouwara et Philianos, 1981 ; McCutcheon et al., 1994**).

Pour faire face aux difficultés liées aux facteurs intrinsèques et environnementaux qui peuvent affecter le contenu phytochimique et la disponibilité des plantes, les chercheurs ont développé la micro propagation des pousses de *R. ulmifolius* et étudié l'activité *in vitro* de l'extrait méthanolique et de ses fractions contre plusieurs champignons pathogènes humains. Ces agents pourraient être ainsi considérée comme des agents antifongiques naturels et ils peuvent être utilisés dans les aliments en tant que « conservateurs secondaires » (**Naidu, 2000**).

Sutton et al, (1998) ont produit des plantules micro propagées de *R. ulmifolius* et évalué les propriétés antimycotiques de son extrait méthanolique. Les champignons filamenteux testés avec le test de diffusion sur disque ont montré une sensibilité variable à l'extrait méthanolique

de *R. ulmifolius*. Les espèces les plus inhibé étaient 5 champignons filamenteux comme *Beauveriasp.*, *Fusarium solani*, *Microsporium canis*, *Phialophoraverrucosa* et *Scopulariopsisbrevicaulis*. Le mécanisme moléculaire par lequel l'extrait de *R. ulmifolius* agit comme agent antifongique est actuellement inconnu, bien qu'il soit tout à fait certain d'après les résultats que ce mécanisme est médié par ses composants tanniques et que les plantules micro propagées pourraient avoir une potentielle utilité en tant qu'agents antifongiques (**Sisti et al., 2007**).

Les poudres et extraits aqueux de 43 espèces végétales, récoltées dans différentes régions du sud marocain, ont été criblés pour leur activité antifongique *in vitro* et *in vivo* contre *Geotrichumcandidum*, ce champignon est responsable de la pourriture aigre des agrumes (**Talibi et al., 2012**). Bien que les tests *in vitro* d'extraits de plantes soient une première étape importante dans la sélection de plantes à potentiel antifongique contre les pathogènes post-récolte des agrumes, des tests *in vivo* sont nécessaires pour vérifier si les résultats positifs des tests *in vitro* peuvent également être obtenus (**Gorris et Smid, 1995**).

Les résultats obtenus dans cette étude ont indiqué que des extraits aqueux de sept espèces végétales, *R. ulmifolius*, *H. umbellatum*, *I. viscosa*, *C. villosus*, *C. siliqua*, *H. antiatlanticum* et *P. atlantica*, diminuaient significativement l'incidence et la gravité de l'aigre pourriture, sans causer d'effets phytotoxiques et inhibaient totalement la croissance mycélienne de *G. candidum*. Cette étude démontre que les extraits de plantes ont un fort potentiel pour contrôler l'aigre pourriture des agrumes. Ces produits naturels représentent donc une alternative durable à l'utilisation de pesticides chimiques (**Talibi et al., 2012**).

III.5 Activité hypoglycémiant

L'utilisation des plantes comme outils thérapeutiques, notamment celles utilisées pour soulager les pathologies chroniques, a eu un rôle remarquable dans la médecine populaire de différents pays (**Valiente, 1978**). Les recherches modernes ne font que redécouvrir ce savoir acquis au cours des siècles. En effet, de nombreux travaux notoires ont pu démontrés l'activité biologique et les modes d'action thérapeutiques des métabolites extraites à partir des plantes, ces dernières permettent d'aborder les traitements de façon globale et moins agressive en éliminant la plupart des effets secondaires connus chez certains médicaments (**Kemassi et al., 2014**).

Une étude a été réalisée pour évaluer l'activité hypoglycémiant des principales plantes utilisées dans la médecine populaire chilienne pour le traitement du diabète, dans deux modèles de diabète induit chez le rat (**Munoz et al., 1981**).

L'activité hypoglycémique d'une infusion de feuilles séchées à 20% de *Bauhinia candicans* Benth. (Leguminosae), *Galega officinalis* L. (Leguminosae), *Morus alba* L. (Moraceae) et *Rubus ulmifolius* S. (Rosaceae), utilisée contre le diabète dans la médecine populaire chilienne, a été évaluée chez des rats hyper glycémiques induits par l'alloxane et la streptozotocine. Chez les rats normaux, les différentes perfusions n'ont pas modifié significativement la glycémie pendant la période étudiée, mais chez les rats diabétiques, des résultats différents ont été observés, selon le médicament diabétogène utilisé. Les infusions de *B. candicans* et de *R. ulmifolius* ont provoqué des effets hypoglycémiques remarquables dans les deux modèles expérimentaux. *B. candicans* a présenté une diminution plus importante de la glycémie chez les rats diabétiques à l'alloxane (39 %) et *R. ulmifolius* a montré une activité similaire chez les rats diabétiques à l'alloxane et à la streptozotocine (28% et 29 %).

D'après les résultats obtenus, ils concluent que les quatre plantes de l'étude étaient actives dans la réaction induite par l'alloxane (modèle d'hyperglycémie chez le rat), mais dans la streptozotocine (modèle de rat diabétique), les plantes ont diverses activités sur le glucose plasmatique *R. ulmifolius* étant le plus efficace (Lemus et al., 1999).

III.6 Activité anticoagulante

Dans un premier temps, une extraction méthanolique et éthanolique de *R. ulmifolius* a été effectuée pour la détermination des constituants actifs et il s'est avéré que les extraits possèdent une teneur en composés phénoliques et flavonoïdes et que les teneurs sont plus élevées dans les extraits méthanolique par rapport aux extraits éthanoliques, ce qui rapporte l'efficacité du méthanol, il donne une meilleure activité anticoagulante. Les deux extraits examinés de *R. ulmifolius* ont prolongé le temps de prothrombine et le TCA (temps de céphaline activée), un déficit ou une inhibition sur la voie intrinsèque des facteurs de coagulation, ce résultat prouve que les extraits ont accéléré la cascade de coagulation par l'activation de plusieurs facteurs.

De plus, cette activité pourrait être due à l'action protéolytique sur le fibrinogène. Ce qui fait que les métabolites secondaires sont des sources potentielles et puissantes d'anticoagulants, il y a même quelques études qui ont montré que les composés d'acide phénolique présentent une excellente activité anticoagulante, les métabolites secondaires d'origine végétale constituent une source potentielle d'anticoagulants (Hood et al., 2008 ; Félix-Silva et al., 2014 ; Luo et al., 2017).

C'est le premier travail qui a traité l'activité anticoagulante du *R. ulmifolius* et qui a montré que cette plante pourrait être utile pour obtenir de différents anticoagulants appliqués comme un

traitement thérapeutique ou pour une utilisation clinique sans effets secondaires en cas d'infection virale dont il a été démontré qu'elle incite la thrombose, par exemple l'épidémie actuelle de virus Covid-19 (**Hireche et al., 2021**).

III.7 Activité antiproliférative

Après une étude approfondie des composants phytochimiques avec des moyens performants tel que l'HPLC/MS et RMN pour atteindre une identification des flavonoïdes dans les feuilles les tiges et les fruits de la plante *R. ulmifolius*, ces composés ont été tester sur la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui est considérée comme les eucaryotes les mieux étudiés, il s'agit d'un type de cellule plus simple que les cellules cancéreuses, et il existe un degré élevé de ressemblance et similitude entre elles presque identiques donc elles sont considérées comme d'excellents systèmes modèles pour les cellules cancéreuses (**Brown et al., 2012**).

Ces composants ont réussi à réduire voire inhiber des cellules de *Saccharomyces cerevisiae* ce fait ils peuvent être recommandée dans la prévention du cancer vu qu'ils apportent des effets inhibiteurs et possèdent une activité antiproliférative (**Ottero et al., 2010 ; Housseinpour et al., 2013**).

III.8 Activité antivirale

Des études récentes ont rapporté les effets inhibiteurs des extraits de plantes médicinales sur la réplication de plusieurs virus, tels que le VIH, le virus de l'hépatite B, virus provoquant des infections respiratoires, virus de la grippe, virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) et bien d'autres (**Mukhtar et al., 2008**).

Une étude a exploré les propriétés antivirales et la cytotoxicité de 30 extraits obtenus à partir de 18 plantes méditerranéennes différentes, sélectionnées pour leur facilité d'accès et pour leur utilisation connue comme remèdes populaires. Ces 30 extraits ont été obtenus à partir de leurs branches, feuilles, fleurs et racines. Lorsqu'ils ont été testés contre des représentants des familles de virus ssRNA β , ssRNA2, dsRNA et ADN, les extraits se sont révélés actifs contre différents virus. Les activités antivirales observées pour certains extraits de plantes méditerranéennes, notamment ceux à large spectre d'activité comme ceux d'*A. arborescens* L. et de *R. ulmifolius*, pourraient constituer une étape d'investigation future dans le but de traduire ces plantes médicinales en composés antiviraux (**Sannaa et al., 2015**).

Partie 2 :
Analyses des articles

Article 1

Profil pharmacologique des parties aériennes de *Rubus ulmifolius* Schott (Ali et al., 2017).

L'objectif de l'étude

Cette étude a eu pour but de cribler l'extrait méthanolique brut des parties aériennes (Ru.Cr) et l'extrait brut riche en flavonoïdes de *R. ulmifolius* (Ru.F) pour une éventuelle activité antioxydante et antipyrétique.

Matériels et méthodes

Matière végétale : Des parties aériennes fraîches de *Rubus ulmifolius* S. ont été récoltées au mois d'aout 2012 au Pakistan.

Préparation de l'extrait brut : Les parties aériennes collectées de *R. ulmifolius* ont été correctement nettoyées et soumises à un séchage à l'ombre, puis écrasées en poudre fine à l'aide d'une meuleuse mécanique. Les matériaux broyés ont été trempé dans du méthanol pendant 15 jours fréquemment secoué puis filtré sur papier filtre Whatman. Les filtrats étaient combinés et concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à un extrait brut gommeux épais et verdâtre foncé de *R. ulmifolius* (Ru.Cr) a été obtenu.

Préparation d'extrait brut riche en flavonoïdes : Pour l'extraction des extraits riche en flavonoïdes, les matières séchées des parties aériennes de *R. ulmifolius* ont été finement réduits en poudre, puis dégraissée par du n-hexane. Les menstrues ont été extraites successivement avec du méthanol en utilisant un appareil Soxhlet pendant 12 h jusqu'à l'obtention d'une masse verte foncée. Le contenu a été concentré par évaporation. Il a donné un extrait brut riche en flavonoïdes *Rubus ulmifolius* S. (Ru.F).

Animaux : Des souris albinos (quel que soit le sexe) pesant 25-30g étaient utilisées dans le dépistage de la toxicité aiguë. Des rats Wistar ont été utilisés pour le criblage de l'activité antipyrétique. Les animaux ont été traités conformément aux « Règlements des procédures scientifiques numéro 1 (2008) de l'Université de Malakand ».

Ils ont été gardés dans des cages sèches et propres à une température de 25 ± 3 °C avec un cycle obscurité/lumière de 12 h : 12 h, humidité relative de 45 à 55 %. Les animaux pour les expériences ont été mis à jeun toute la nuit. Cependant, ils avaient libre accès à l'eau.

Partie 2 : Analyses des articles

Analyses statistiques

Toutes les données sont exprimées en moyenne \pm erreur standard de la moyenne (SEM). Le test t de Student est appliqué en utilisant Graph Pad Prism avec $p < 0,05$.

Activités pharmacologiques

Criblage phytochimique préliminaire : Le Ru.Cr a été exposé à un examen phytochimique préliminaire pour la détection des terpénoïdes, des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des alcaloïdes, des composés phénoliques, des protéines, des stérols et des glucides (**Harbone et Grayer, 1988 ; Toilettes, 2009**). De même, Ru.F a également été testé pour les flavonoïdes.

Etudes de toxicité aiguë des souris albinos

Elles ont été utilisées pour l'évaluation des études de toxicité aiguë de Ru.Cr et Ru.F. Les études de toxicité aiguë ont été menées en deux phases. Les souris ont été mises à jeun toute la nuit. Dans la phase 1, les animaux ont été répartis en trois groupes ayant chacun 3 souris. Le Ru.Cr leur a été administré à des doses de 10, 100 et 1000 mg/kg. Les animaux ont été constamment observés pendant 2 semaines pour toute altération du comportement ou nombre de décès. Dans la 2^{ème} phase, trois groupes supplémentaires composés de 3 souris chacune, ont reçu des doses de 2000, 4000 et 6000 mg/kg de Ru.Cr par voie orale, respectivement. Tous les animaux ont été observés en continu pendant une période de 2 semaines pour changements de comportement et décès.

La même procédure a été utilisée pour déterminer les études de toxicité aiguë du Ru.F. Des changements de comportement et des décès ont été enregistrés (**Lorke, 1983**).

Etude de la cytotoxicité des artémias

Un essai biologique de létalité des crevettes de saumure a été réalisé pour évaluer l'activité cytotoxique du Ru.Cr et du Ru.F. Un récipient en plastique contenant de l'eau de mer artificielle filtrée déjà préparée en dissolvant du sel marin dans de l'eau distillée a été utilisé dans les expériences. Son pH a été maintenu à 8,5 ce qui favorise l'éclosion des œufs d'artémias (*Artemia salina*) (**Ali et al., 2011**).

Le récipient a été incubé à température ambiante pendant les 48 heures suivantes. Après l'éclosion des œufs, les nauplius qui s'étaient séparés des coquilles ont été obtenus à partir de la partie allégée du compartiment. Chaque flacon (après évaporation du solvant) a été hébergé avec dix nauplius (10 larves d'artémias). Le volume de chaque flacon a été réalisé avec de l'eau de mer et ils ont été maintenus pendant 24 h à température ambiante. Ensuite l'extrait riche en

Partie 2 : Analyses des articles

flavonoïdes Ru.F a été testé à différentes concentrations. Le nombre de crevettes mortes et survivantes a été comptés.

Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant du Ru.Cr et du Ru.F a été déterminé par le % de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Ilahi et al., 2013). L'acide ascorbique a servi d'antioxydant standard. Le pourcentage d'inhibition ou de piégeage des radicaux libres du DPPH a été déterminé à l'aide de la formule suivant :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = \frac{\text{Absorbance du contrôle} - \text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorption du contrôle}} \times 100$$

Activité antipyrétique

La pyrexie a été induite chez le rat en injectant 20 % de levure de bière à une dose de 1 ml/100g de poids corporel (sc) (Mandal et al., 2011). Les animaux ont été mis à jeun pendant 18 h. Ils avaient libre accès à l'eau. Un thermomètre numérique a été utilisé pour enregistrer la température rectale des animaux. Des rats avec une élévation de température d'au moins 0,5 °C à 1 °C ont été inclus dans l'étude. Les animaux ont été divisés en six groupes (GI - GVI) ayant 6 rats dans chaque groupe.

Groupe GI : a servi de groupe témoin négatif et a reçu 2% de gomme d'acacia (p.o).

Groupe GII : représentait le groupe standard et recevait du paracétamol (33 mg/kg par poids corporel dans 2 % de gomme arabique) (p.o).

Groupe GIII/GIV : ont reçu 150 mg/kg et 300 mg/kg de Ru.Cr (p.o).

Groupe GV/GVI : ont reçu 150mg/kg et 300 mg/kg de Ru.F (p.o).

Respectivement la température rectale des animaux a été notée à intervalles d'une heure pendant 4 h après l'administration de paracétamol. La diminution rectale de la température corporelle des animaux d'essai a été calculée par la formule suivante (Lekshmi et Reddy, 2011) :

Partie 2 : Analyses des articles

$$\text{Pourcentage de réduction de la pyrexie} = \frac{B-Cn}{B-A} \times 100$$

A = température corporelle normale.

B= Température rectale à la 18ème heure après l'administration de levure.

Cn = Température rectale après administration du médicament.

Résultats et discussions

Dépistage phytochimique préliminaire : Les résultats pour la présence de différents composés phytochimiques sont mentionné dans le **tableau 6**. Il a été testé positif pour la présence des flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, saponines, glycosides, composés phénoliques, stérols, glucides, terpénoïdes et protéines.

Tableau 6. Résultats des différents composés phytochimiques présents dans *Rubus ulmifolius* S.

<i>R. ulmifolius</i>	Phytochimiques	Résultats
1	Flavonoïdes	Positif
2	Alcaloïdes	Leger positif
3	Tanins	Positif
4	Saponines	Positif
5	Protéines	Positif
6	Stérols	Positif
7	Les glucides	Positif
8	Glycosides	Positif
9	Terpenoides	Positif

Études de toxicité aiguë : Le but des études de toxicité aiguë est de déterminer une gamme de dose sûre qui peut être extrapolée à l'homme (**Zahra et al., 2011**). Aucun décès n'a été observé jusqu'à la dose orale maximale (6000 mg/kg) de Ru.Cr et Ru.F dans tous les groupes d'essais. Ces résultats suggèrent que Ru.Cr et Ru.F sont sans danger jusqu'à 6000 mg/kg de poids corporel par voie orale .En raison de la marge de sécurité élevée dans l'étude de toxicité aiguë il a été sélectionné des doses orales de 150 mg/kg et 300 mg/kg pour une possible activité antipyrétique *in vivo*.

Partie 2 : Analyses des articles

Étude de la cytotoxicité des artémias : Les effets de Ru.Cr et Ru.F sur les artémias pour une éventuelle létalité sont présentés dans le **tableau 7**. L'ampleur de la létalité était directement proportionnelle à la concentration des échantillons d'essai. Ru.Cr a une CL₅₀ de $16,7 \pm 1,4$ µg/ml. LC_{max∞100%} était en concentration de 100 µg/ml. De même, Ru.Fa une CL₅₀ de $10,6 \pm 1,8$ µg/ml avec LC_{max∞100%} de 75 µg/ml. Ceci explique que l'extrait riche en flavonoïdes peut avoir des constituants cytotoxiques ainsi que cette étude justifie que la plante puisse être une source potentielle pour l'isolement d'agents bioactifs de molécules anticancéreux car il existe des rapports qui corrélient les simples essais biologiques de paillasse et la cytotoxicité des cellules tumorales humaines en tant qu'agents potentiels anti-tumoraux (**Sökmen, 2001 ; Anderson et al., 1991**). Cela nécessite l'isolement de molécules bioactives car les plantes sont de bonnes sources de médicaments anticancéreux.

Tableau 7. Test de cytoxicité des crevettes de saumure des échantillons de test de *R. ulmifolius*

Conc. (µg/ml)	Nombre de crevettes de saumure	Crevettes de saumure tuées (moyenne±ET,n=3)	
		Ru.Cr	Ru.F
Contrôle négatif	10	00	00
2,5	10	$3 \pm 0,47$	$3,23 \pm 0,27$
5	10	$3,33 \pm 0,27$	$4,11 \pm 0,27$
10	10	$4 \pm 0,47^*$	$5 \pm 0,47^{**}$
12,5	10	$5 \pm 0,27^{**}$	$7,33 \pm 0,54^{***}$
25	10	$6,36 \pm 0,27^{**}$	$9,33 \pm 0,27^{***}$
50	10	$7,42 \pm 0,27^{***}$	$9,66 \pm 0,27^{***}$
75	10	$9,33 \pm 0,27$	Tous morts
100	10	Tous morts	Tous morts
250	10	Tous morts	Tous morts
500	10	Tous morts	Tous morts
CL 50(µg/ml)	10	$16,7 \pm 1,4$	$10,6 \pm 1,8$

Toutes les valeurs sont prises comme moyenne ± SD, **P < 0,05, ***P < 0,01

Partie 2 : Analyses des articles

Activité antioxydante : Les résultats de l'activité antioxydante de Ru.Cr et Ru.F sont indiqués dans le **tableau 8**. Le Ru.Cr a montré une inhibition de $59,4 \pm 0,073$ % à une concentration de 40 ppm et une inhibition de $74,2 \pm 0,324$ % à une concentration de 200 ppm. Les piègeurs de radicaux libres avec Ru.F est de $61,43 \pm 0,256\%$ en concentration de 40 ppm. L'acide ascorbique a inhibé l'activité de piégeage des radicaux libres jusqu'à $62,7 \pm 0,291$ %. En plus, la concentration maximale (200 ppm), Ru.F a montré $83,16 \pm 0,091\%$ que les radicaux libres ont une activité de récupération. Alors que l'acide ascorbique a démontré $87,26 \pm 0,128$ % l'activité de piégeage des radicaux libres. Cela montre que l'activité de piégeage des radicaux libres de Ru.F est comparable à l'acide ascorbique, un antioxydant standard.

Tableau 8. Activité antioxydante de *R. ulmifolius*

Conc. (Ppm)	% de piégeage des radicaux libres DPPH stables		
	Acide ascorbique (témoin)	Ru.Cr	Ru.F
40	$62,70 \pm 0,291$	$59,2 \pm 0.073^{***}$	$61,43 \pm 0,256^{***}$
60	$69,96 \pm 0,522$	$61,96 \pm 0.259^{***}$	$68,61 \pm 0,262^{***}$
80	$75,03 \pm 0,328$	$66,10 \pm 0,275^{**}$	$73,20 \pm 0,233^{***}$
100	$81,26 \pm 0,233$	$71,26 \pm 0,321^{***}$	$79,38 \pm 0,298^{***}$
200	$87,26 \pm 0,128$	$74,2 \pm 0,324^{***}$	$83,16 \pm 0,091^{***}$

Toutes les valeurs sont prises comme moyenne \pm SEM (n = 3), **P < 0,05, ***P < 0,01

Dans le processus d'oxydation de base, l'étape la plus importante est la formation de radicaux libres (ayant des électrons non appariés) dans les systèmes vivants, les médicaments et même la nourriture (**Pourmorad et al., 2006**). Les radicaux libres, qui sont extrêmement instables, provoquent de nombreuses maladies de rein et foie, maladie d'Alzheimer, fibrose, anomalies de la perfusion cardiaque, athérosclérose, cancer, arthrite, troubles neurodégénératifs et vieillissement (**Kang et al., 2014**). Il est rapporté que les antioxydants empêchent l'oxydation et ces dommages sont causés par des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les radicaux libres (**Leong et al., 2008**). Les antioxydants agissent en interférant dans la réaction du processus d'oxydation avec le chélateur des métaux catalytiques et les radicaux libres sous forme d'oxygène charognards (**Shahidi et al., 1992 ; Güder et Korkmaz, 2012**). Ru.Cr et Ru.F ont démontrés des activités de piégeage des radicaux libres comparables à la fois à faible et a concentrations élevées par rapport à l'acide ascorbique standard. L'ordre de piégeage des

Partie 2 : Analyses des articles

radicaux libres des échantillons de test (40 et 200ppm) et la norme est : acide ascorbique > Ru.F > Ru.Cr. Leurs découvertes confirment que les rapports selon lesquels les espèces de Rubus sont extrêmement abondant avec des contenus phénoliques comme les flavonoïdes, les acides phénoliques et les anthocyanes. Il a été rapporté que des composés possèdent des propriétés antioxydantes, propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Sariburun et al., 2010**). Parmi les différentes espèces du genre Rubus, *Rubus ellipticus* a montré des activités antioxydantes (**Vadivelan et al., 2009**). *Rubus cor eanus* aurait des propriétés antioxydantes (**Choi et al., 2011**). Il a été rapporté que les composés phénoliques comme les flavonoïdesprésentaient des activités antioxydantes importantes (**Amjad et Shafighi, 2013**). Basé sur des rapports sur l'importance des composants phénoliques en tant qu'antioxydants, l'activité antioxydante observée peut être attribué à la présence de flavonoïdes comme constituants actifs qui nécessitent des recherches supplémentaires pour l'isolement de composants antioxydants de *R. ulmifolius*.

Etudes antipyrétiques : Ru.Cr et Ru.F ont tous deux démontré une activité antipyrétique significative, comme mentionnée dans le **tableau 9**. Les effets antipyrétiques sont donc comparables aux effets antipyrétiques du paracétamol un antipyrétique classique. Ru.Cr en dose test de 300 mg rectal réduit d'administration jusqu'à 74% . À la 3e heure, le Ru.Cr a diminué la température corporelle de 58%.. De même, Ru.F a produit une réduction de 72% de la température du corps après 4h de l'administration .La diminution de la température était de 59%, soit 52% de paracétamol, antipyrétique classique. Ceci suggère que Ru.Cr et Ru.F ont une activité antipyrétique. Les antipyrétiques sont utilisés pour réduire la température corporelle élevée à la fois par la dépression des médiateurs inflammatoires sur les sites des tissus périphériques et sur les sites de thermorégulation au sein du système central (**Aronoff et Neilson, 2001**).

Tableau 9. Effet des extraits bruts et flavonoïdes de *Rubus ulmifolius* S. sur la pyrexie induite par les levures chez le rat.

Groupes	Température rectale en °C					
	Normal	Brasserie Levure	Après administration d'échantillons d'essai et de médicament standard			
			1 ^{ère} heure	2 ^{ème} heure	3 ^{ème} heure	4 ^{ème} heure
GI (Contrôle)	37.36 ± 0.08	39.61 ± 0.03	39.41 ± 0.04 (8.88%)	39.48 ± 0.06 (5.92%)	39.43 ± 0.07 (8.14%)	39.46 ± 0.04 (6.66%)
GII (Paracétamol)	37.46 ± 0.04	39.4 ± 0.06	38.86 ± 0.08 (27.58%)	38.38 ± 0.07 (52.58%)	38 ± 0.05*** (72.41%)	37.7 ± 0.05*** (87.93%)
Ru.Cr 150 mg	37.13 ± 0.03	39.45 ± 0.24	39.36 ± 0.08 (3.87%)	39.10 ± 0.15 (15.08%)	38.76 ± 0.23 (29.74%)	38.20 ± 0.11* (53.87%)
GIV 300 mg			37.23 ± 0.08	38.90 ± 0.30	38.71 ± 0.08 (11.37%)	38.36 ± 0.34 (32.33%)
Ru.F 150 mg	37.16 ± 0.08	39.36 ± 0.38	38.84 ± 0.12 (23.63%)	38.71 ± 0.35 (29.54%)	38.53 ± 0.12 (37.72%)	37.87 ± 0.50** (67.72%)
GIV 300 mg			37.26 ± 0.12	39.66 ± 0.20	38.70 ± 0.45 (40%)	38.23 ± 0.08** (59.58%)

Toutes les valeurs sont prises comme moyenne ± SEM (n=3), **P<0.01

Les AINS ont une action antipyrétique en raison de leurs effets inhibiteurs sur la cyclooxygénase (COX), une enzyme responsable de la production des prostaglandines, qui sont des médiateurs importants pour produire la douleur et la pyrexie. On dit que les AINS possèdent des propriétés antipyrétiques qui réinitialisent l'hypothalamus thermostat et réduisent ainsi la température corporelle élevée pendant la fièvre. La perte de chaleur est favorisée par la vasodilatation cutanée et la transpiration. Le paracétamol produit une action antipyrétique tout en agissant sur le SNC (Aronoff et al., 2006). L'administration de levure induit la libération de phagocytes et les interleukines (pyrogènes endogènes). Les Interleukines aident à la production de lymphocytes T, qui à leur tour induisent l'hypothalamus à produire des prostaglandines qui enfin élèvent la température corporelle (Earle et Subramanyam, 2014).

Dans une dose d'essai de 300 mg, il est évident que Ru.F produit une chute de 85,83 % de la température corporelle. Ces résultats confirment que l'extrait méthanolique brut et l'extrait brut riche en flavonoïdes de *R. ulmifolius* ont un effet antipyrétique important. Cet effet est attribué à la présence de composés phytochimiques comme les flavonoïdes, qui sont signalés pour leurs effets inhibiteurs sur les cyclooxygénases (Mutalik et al., 2003 ; Rust et al., 2008). Les

Partie 2 : Analyses des articles

flavonoïdes sont connus pour agir bloquant la synthèse des prostaglandines E2 principalement par inhibition de l'enzyme prostaglandines synthétase (**Levine et al., 1985**). On en déduit que les effets antipyrétiques peuvent être attribués aux flavonoïdes présents dans l'espèce. Ainsi, la présente étude confirme l'utilisation folklorique de *R. ulmifolius* comme remède antipyrétique. Cependant, d'autres études sont suggérées pour isoler les constituants antipyrétiques pharmacologiquement actifs de l'espèce.

Article 02

L'extrait de feuille de *R. ulmifolius* inhibe la prolifération des cellules de myélome murin (Triggiani et al., 2012).

L'objectif de l'étude

Lors de cette étude, le but était de révéler la présence de molécules dans les feuilles de *Rubus ulmifolius* ayant le pouvoir d'inhiber la prolifération cellulaire. Pour cette raison, les chercheurs ont testé l'activité cytotoxique de l'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* contre une lignée cellulaire de myélome murin.

Matériel et méthodes

Matériel végétal et produits chimiques : Les feuilles de mûrier (*R. ulmifolius*, plante de 10 ans) ont été récoltées courant juin dans une ferme située à Campagnano di Roma (Italie) où elles ont poussé spontanément. Sauf indication contraire, les solvants et les réactifs provenaient de Sigma (St. Louis, MO, USA).

Extrait de plante : Des feuilles fraîches ont été pesées et homogénéisées dans de l'éthanol absolu à température ambiante. Après 50 min, l'extrait éthanolique a été centrifugé. Le résidu résultant a été dilué dans de l'eau déminéralisée pour obtenir une solution aqueuse. L'échantillon a ensuite été centrifugé puis filtré et stocké à -20°C jusqu'au test.

Culture cellulaire : L'activité biologique de l'extrait de feuille de *R. ulmifolius* a été testée sur une lignée cellulaire de myélome murin (P3X) achetée auprès de l'American Type Culture Collection, c'est une lignée cellulaire résistante à la 8-azaguanine dérivée d'une souche de souris Balb/c. Pour les expériences, les cellules P3X ont été propagées et maintenues dans le milieu Dulbecco (DMEM, BioWhittaker - Lonza, Milan, Italie) additionné à du sérum bovin fœtal (FBS, BioWhittaker, de la pénicilline, de la streptomycine et de la glutamine) dans un incubateur humidifié à 37°C.

Test de cytotoxicité : Les effets cytotoxiques de l'extrait des feuilles hydrolysées ont été déterminés en incubant des cellules avec différentes concentrations d'extraits pendant 24 h dans des plaques standard à 24 puits (Cellstar, Greiner bio-one, International PBI SA, Milan, Italie). Pour chaque traitement, 105 cellules ont été semées dans du DMEM et les volumes appropriés de l'échantillon d'extrait ont été ajoutés directement aux suspensions cellulaires. Après 20 h, le nombre de cellules a été évalué par des comptages cellulaires effectués manuellement à l'aide d'une chambre Thoma Zeiss. La présence de cellules mortes a été enregistrée par un test de vitalité utilisant une solution de bleu Trypan (Cook et Mitchell, 1989).

Partie 2 : Analyses des articles

Imagerie numérique au microscope inversé : La morphologie des cellules a également été étudiée à l'aide d'un microscope Nikon (Eclipse TS100) et d'objectifs de grossissement 40 fois. Les images photographiques des bandes vidéo ont été obtenues à l'aide du logiciel Studio9 (Pinnacle v9.0.4.170, AvidTechnology Inc., USA).

Electrophorèse bidimensionnelle sur gel de polyacrylamide (2D-PAGE) : Les cellules ont été lavées deux fois avec du PBS stérile et remises en suspension dans un tampon contenant du DTE, du CHAPS, de l'urée et du Tris-base. La rupture cellulaire a été obtenue par sonification dans un bain de glace. La teneur en protéines des lysats cellulaires a été évaluée selon **Bradford, (1976)**. La coloration à l'ammoniac argentique a été réalisée selon (**Switzer et al., 1979**). Les spots protéiques d'intérêt ont été identifiés par appariement sur gel avec des cartes de référence protéomiques (**Smales et al., 2004 ; Dinnis et al., 2006**).

L'analyse de l'image : Les images de gels ont été acquises (Image Scanner, Amersham Biosciences) et analysées avec Image Master™ Platinum (Amersham Biosciences). Pour l'analyse protéomique comparative, le pourcentage de volume relatif spot a été adopté ; des seuils significatifs pour les valeurs de changement de pli (rapport entre les cellules de contrôle de l'extrait traité/véhicule) ont été fixés à 2,0 et 0,5 pour mettre en évidence les protéines surexprimées et sous-exprimées, respectivement.

Analyses statistiques

Toutes les expériences ont été réalisées en triple, les données sont présentées sous forme de valeurs moyennes avec écart type. Les différences avec au moins une valeur P de 0,05 ont été considérées comme significatives. Pour les analyses protéomiques comparatives, seuls les gels représentatifs sont présentés.

Résultats et discussions

Dans cette étude les chercheurs ont étudié les effets cytotoxiques des extraits des feuilles de *R. ulmifolius* sur une lignée cellulaire de myélome murin P3X. Après un criblage préliminaire, ils ont également étudié les effets de l'extrait testé au niveau moléculaire grâce à une approche protéomique comparative, permettant de mettre en évidence comment les extraits des feuilles de *R. ulmifolius* pourrait moduler l'expression des protéines des cellules P3X.

Partie 2 : Analyses des articles

Cytotoxicité de l'extrait de feuilles purifiées de *R. ulmifolius*

La cytotoxicité de *R. ulmifolius* a été démontrée in vitro contre des cellules de myélome murin P3X en utilisant des concentrations croissantes d'extrait de feuilles, allant de 3 à 30 $\mu\text{l/ml}$ de culture. Des concentrations plus élevées se sont avérées inhiber de plus en plus la prolifération cellulaire (**Figure 11 et 12**).

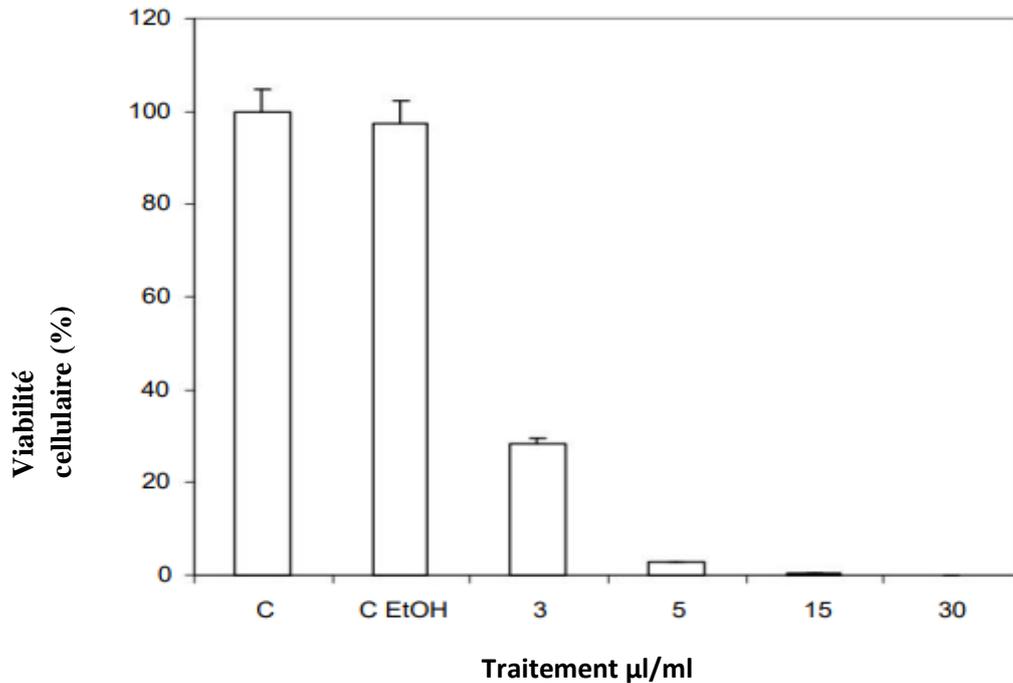


Figure 12. Prolifération de cellules de myélome murin P3X.

Les traitements étaient les suivants :

C : cellules témoins (non traitées)

C Et OH : cellules traitées avec le véhicule

3 : cellules traitées avec 3 $\mu\text{l/ml}$

5 : cellules traitées avec 5 $\mu\text{l/ml}$

15 : cellules traitées avec 15 $\mu\text{l/ml}$

30 : cellules traitées avec 30 $\mu\text{l/ml}$ d'extrait des feuilles de *R. ulmifolius*.

Les valeurs moyennes \pm l'écart type sont rapportées.

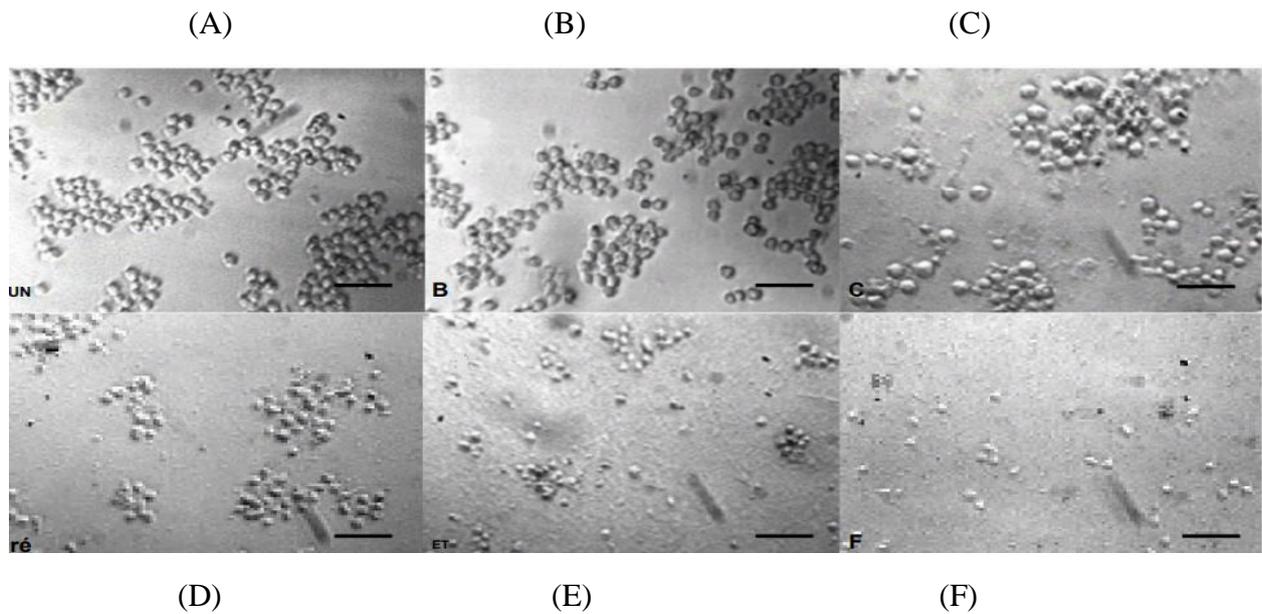


Figure 13. Images de microscopie de la prolifération des cellules P3X du myélome murin.

(A) : Cellules témoins (non traitées)

(B) : cellules traitées avec le véhicule

(C) : cellules traitées avec 3 µl/ml

(D) : cellules traitées avec 5 µl/ml

(E) : cellules traitées avec 10 µl/ml

(F) : cellules traitées avec 30 µl/ml d'extrait de feuille de *R. ulmifolius*.

La prolifération cellulaire était de plus en plus réduite à des concentrations plus élevées d'extrait. Barre d'échelle = 30 µm.

Protéomique comparée

La coloration à l'argent a permis de révéler près de 2500 points dans les cellules P3X non traitées (témoin) (**Fig. 13.A**), les cellules P3X traitées avec le véhicule seul (témoin véhicule) (**Fig. 13.B**) et les cellules P3X traitées avec l'extrait de feuille de *R. ulmifolius* (extrait de 5 µl/ml de culture) (**Fig. 13.C**). Inversement, la carte protéomique des cellules P3X traitées avec une concentration d'extrait plus élevée (culture de 30 µl/ml) n'ont révélé qu'une quantité très limitée de spots protéiques (220) (**Fig.13.D**), indiquant probablement une protéolyse massive dans des conditions de culture aussi extrêmes. Ce phénomène peut à son tour suggérer l'induction de l'apoptose, bien que d'autres analyses soient nécessaires pour confirmer une telle hypothèse.

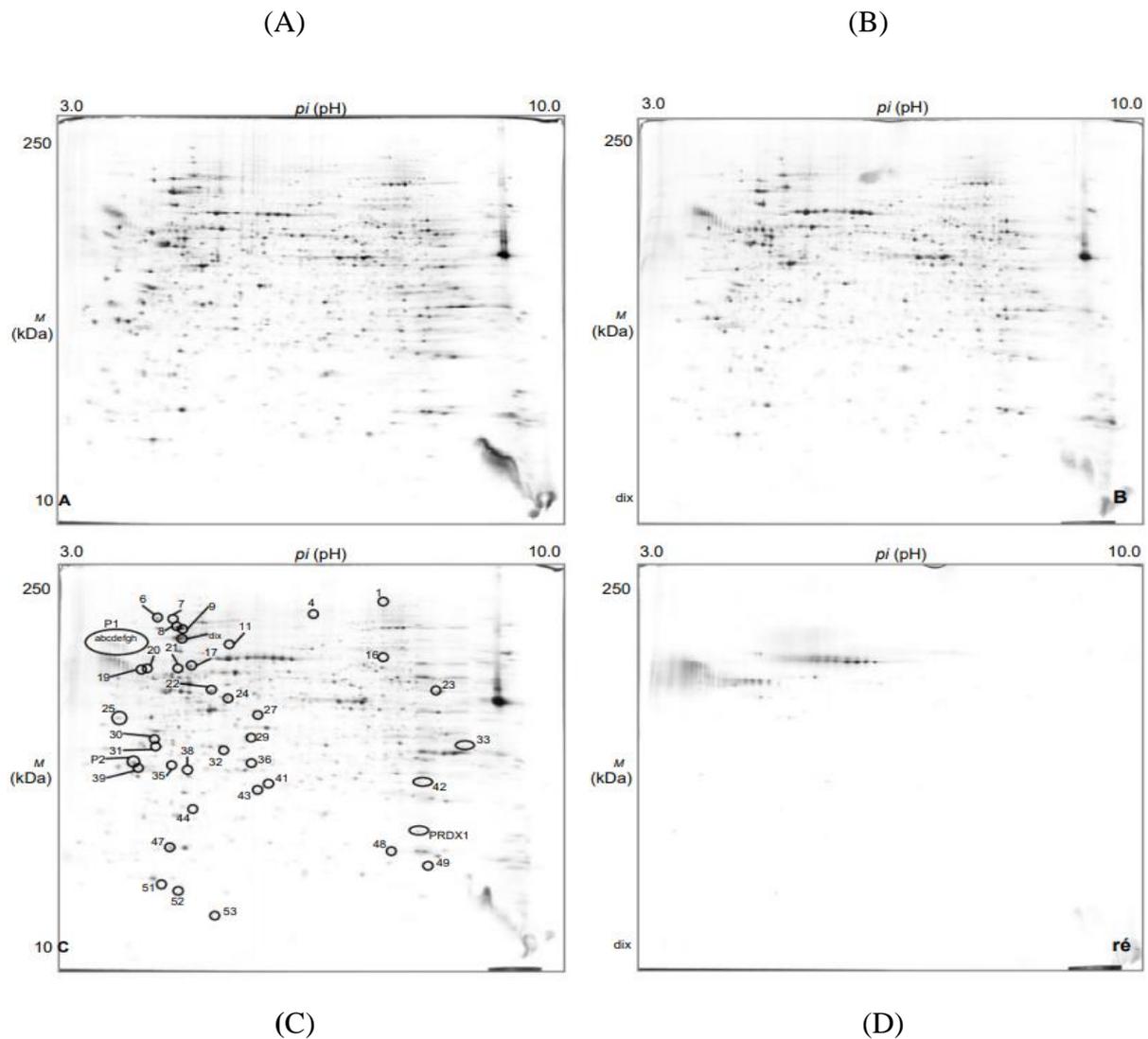


Figure 14. Protéomique comparative des cellules P3X du myélome murin.

(A) : Cellules témoins (non traitées)

(B) : cellules traitées avec le véhicule

(C) : cellules traitées avec 5 µl/ ml

(D) : avec 30 µl/ml d'extrait de feuille de *R. ulmifolius*.

L'appariement de gel avec des cartes de référence (Smales et al., 2004 ; Dinnis et al., 2006) a permis l'identification de 29 produits géniques. Les cartes protéomiques ont également été calibrées pour les valeurs de pI et Mr. Une fois définis les seuils statistiquement significatifs sont de $\geq 2,0$ a $\leq 0,5$ pour les valeurs de changement de facteur dans le rapport d'abondance relative des protéines (pour mettre en évidence les protéines surexprimées et sous-exprimées, respectivement), ensuite l'analyse quantitative a indiqué que le contrôle des cellules P3X non traitées et le contrôle du véhicule des cellules P3X traitées à l'éthanol sur les cartes

Partie 2 : Analyses des articles

protéomiques étaient presque superposables. À l'inverse, 45 spots protéiques ont montré des niveaux significativement modifiés dans les cellules P3X traitées avec l'extrait de feuille de *R. ulmifolius* (culture de 5 µl/ml) par rapport au témoin traité avec le véhicule (**tableau 10**). Parmi ceux-ci, ils ont pu discriminer :

- 1) Un seul spot protéique sous-exprimé dans les cellules traitées (spot #21).
- 2) 36 spots protéiques surexprimés dans les cellules traitées.
- 3) 9 spots protéiques présents exclusivement dans les cellules traitées et absents de la carte contrôle véhicule (spots #P1a-h et P2).

Tableau 10. Protéines exprimées différemment dans les cellules de myéline murin P3X traitées avec l'extrait de feuille de *R. ulmifolius* (5 µl/ml de culture).

Spot pI M.			Changement de pli (traité/véhicule)*
PRDX1 (Peroxi-rédoxine 1) 7.19		21820	2.28
#1	6.29	153893	2.01
#4	5.95	132077	7.92
#6	4.80	112603	2.79
#7	4.98	111857	2.02
#8	5.10	94714	2.57
#9	5.03	96640	4.18
#dix	5.07	84647	2.11
#11	5.29	78773	3.64
#17	5.24	67175	6.59
#19	4.63	65255	3.12
#20	4.68	65773	3.82
#21	5.03	65773	0.48
#22	5.44	56296	3.50
#23	7.49	56148	2.01
#24	5.29	49498	3.10
#25	4.35	43056	2.29
#27	5.47	43694	2.32
#29	5.44	37805	3.18
#30	4.77	37253	2.57
#31	4.78	35644	2.34
#32	5.33	34694	2.00
#33	8.05	35731	2.06
#35	4.87	32074	2.00
#36	5.43	31917	3.42
#38	5.17	30614	2.24
#39	4.58	30840	2.28
#41	5.53	29005	4.00
#42	6.99	27481	2.18
#43	5.47	26749	2.79
#44	5.29	23315	2.83
#47	4.95	18287	2.12
#48	6.40	17844	2.83
#49	7.24	16255	2.20
#51	4.87	14203	3.61
#52	5.04	13690	2.22
#53	5.41	11700	4.30
P1a	3.92	80926	présent
P1b	4.04	80202	présent
P1c	4.13	79484	présent
p1d	4.24	78419	présent
P1e	4.35	77718	présent
P1f	4.41	76333	présent
P1g 4,45 P1h 4,50 P2 4,53 * Les valeurs de		72650	présent
changement de pli indiquent le rapport des volu-		71777	présent
de la tache protéique en % calculés en tant que		32311	présent

Partie 2 : Analyses des articles

L'identification de protéines différemment exprimées est encore à ses balbutiements. Néanmoins, les chercheurs ont pu identifier, parmi les protéines surexprimées, la Peroxiredoxine1 (Prdx1). Il s'agit d'une protéine impliquée de manière critique dans la régulation redox des cellules, puisque Prdx1, qui est exprimé dans le cytosol de nombreux types de cellules et de tissus, jouerait un rôle important dans la défense contre le stress oxydatif en éliminant les peroxydes et en maintenant un bon équilibre redox (**Ishii et al., 1993 ; Rhee et al., 2005**). Un nombre croissant de preuves indique qu'un déséquilibre de l'homéostasie redox avec des espèces réactives de l'oxygène (ERO) élevées/oxydatives peut engendrer un stress oxydatif. Bien que les ERO agissent en tant que médiateurs et régulateurs dans les processus de signalisation à des concentrations faibles à modérées, par contre à des concentrations élevées, ils peuvent être extrêmement dangereux pour les organismes vivants, car ils peuvent endommager par oxydation les composants cellulaires (lipides, ADN et, surtout, pro). Un rôle bien reconnu est également démontré dans le cancer, puisque des ERO élevés favorisent la tumorigenèse. Cependant, les mécanismes exacts d'un tel phénomène ne sont pas encore clairs. Prdx1 pourrait également participer aux cascades de signalisation des facteurs de croissance et du facteur de nécrose tumorale alpha en régulant les concentrations intracellulaires de H₂O₂. L'ablation de Prdx1 est liée à une susceptibilité accrue au cancer du sein et a récemment été désignée comme une protection pour l'activité lipide phosphatase de PTEN, qui est essentielle pour sa fonction suppressive de tumeur (**Cao et al., 2009**). De plus, les fibroblastes déficients en Prdx1 en culture présentent une prolifération réduite et une sensibilité accrue aux dommages oxydatifs de l'ADN. Il a également été démontré que Prdx1 a des activités suppresseurs de tumeurs, puisqu'il a été montré que les souris Prdx1développent une fréquence accrue de cancers malins multiples à mesure qu'elles vieillissent, probablement en raison d'une accumulation aberrante de dommages oxydatifs (**Neumann et al., 2003**). De plus, un rôle important de Prdx1 en tant que régulateur négatif de l'inflammation a récemment été démontré (**Kisucka et al., 2008**).

De nombreux suppléments et aliments enrichis en polyphénols semblent avoir des effets bénéfiques sur la santé, bien que la base moléculaire de ces actions dans les tissus cibles ne fasse que commencer à être abordée. Or il est probable que les actions des compléments alimentaires pourraient être corrélées avec des modifications des tissus cibles en protéines spécifiques, soit dans leur expression, soit dans leurs modifications post-traductionnelles (**Deshane et al., 2004**).

Partie 2 : Analyses des articles

Le concept selon lequel les aliments et les composés phytochimiques peuvent prévenir à la fois les carences et les maladies chroniques remonte à l'histoire de l'humanité. La recherche nutritionnelle actuelle peut s'appuyer sur des technologies sophistiquées pour révéler les mécanismes sous-jacents à ces hypothèses et fournir leur base au niveau moléculaire. Par exemple, l'utilisation de la protéomique (2D-PAGE pour la séparation des protéines et les techniques MS pour leur identification) fournit aux chercheurs des outils inestimables pour étudier comment des types cellulaires, tissus, organes spécifiques peuvent être affectés par de tels composés et pour l'identification de protéines médiant les effets biologiques (**Kim, 2005**). Une telle approche est actuellement assez inexploitée dans l'analyse des effets des extraits de plantes, étant l'une des exceptions les plus remarquables l'analyse protéomique de la modification du cerveau du rat par des extraits de pépins de raisin a récemment été proposée par **Deshane et al., (2004)**.

De même, l'analyse protéomique des cellules de myélome en est encore à ses balbutiements, car seules des informations incomplètes et fragmentaires sont fournies, provenant principalement de modèles de lignées cellulaires ou décrivant des voies de signalisation individuelles impliquées dans le développement de la maladie, l'influence des conditions micro-environnementales ou la réponse aux traitements pharmacologiques (**Cumova et al., 2011**). Les avancées dans le domaine semblent être un grand défi, qui mérite cependant d'être approfondi. Dans le cas des extraits de feuilles de *R. ulmifolius*, par exemple, l'identification de protéines exprimées différemment serait fondamentale pour évaluer la base moléculaire de la cytotoxicité vis-à-vis des cellules de myélome murin P3X. A la lumière des résultats présentés ici sur la modulation de l'expression de Prdx1, une analyse protéomique redox permettant l'identification des protéines oxydées pourrait également être entreprise.

La recherche fondamentale sur le cancer et la découverte d'une chimiothérapie ciblée peuvent finalement impliquer la recherche de protéines spécifiques. Dans cette optique, la protéomique représente l'outil électif pour identifier les changements dans l'expression des protéines ou leurs modifications en réponse à des stimuli spécifiques, la nature à haut débit de la technologie et l'absence de prédictions a priori constituant des avantages remarquables (**Kim, 2005**).

L'extrait de feuille de *R. ulmifolius* inhibe Prolifération des cellules de myélome murin (**Triggiani et al., 2012**).

Article 3

Potentiel anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Rubus ulmifolius* (Schott) (Pandey et al., 2013).

L'objectif de l'étude

Le but de ce travail était d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Rubus ulmifolius* par la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique et l'œdème de l'oreille induit par l'huile de Croton sur des modèles animaux.

Matériel et méthodes

1-Extraction de matériel végétal : Plante entière de *R. ulmifolius* ont été achetées à l'Indore. La plante entière a été identifiée par le professeur HS Rai Département de l'agriculture, Govt. Institut de recherche agricole, Mandla.

Les matières végétales séchées ont été réduites en poudre à l'aide d'un mélangeur, en poudre grossière et cette poudre a été conditionnée dans une colonne soxhlet et extraite avec de l'éthanol et une macération à froid avec de l'eau.

2-Identification phytochimique du *Rubus ulmifolius* (Kokate CK, 1999) :

Identification des alcaloïdes avec une petite quantité d'extrait a été agitée avec quelques gouttes de dilHCl et filtrée, le filtrat a été testé avec un certain nombre de réactifs alcaloïdes comme le réactif de Dragendorff puis précipité brun orangé a été trouvé.

Identification des flavonoïdes avec une petite quantité d'extrait d'éthanol qui a été dissoute dans de l'éthanol, puis une pincée de mg a été ajoutée en tournant lentement la conc. Une couleur rose Hcl a été obtenue.

Les Stéroïdes par l'extrait éthanolique qui est chauffé au reflux séparément avec une solution d'hydroxyde de potassium alcoolique, puis il a été dilué avec de l'eau distillée et extrait avec de l'éther, l'extrait étheré est évaporé et le résidu a été soumis au test de Burchard de Liebermann.

Les Saponines Environ 1 ml d'éthanol et d'extrait aqueux a été dilué avec de l'eau distillée à 20 ml et agité dans un cylindre gradué pendant 15 minutes. Une couche de mousse de 1 cm a été obtenue.

Partie 2 : Analyses des articles

3-Détermination de la toxicité aiguë LD50 : Veeraraghavan (2003) :

La toxicité aiguë a été effectuée par la procédure standard sur des groupes de trois souris de chaque sexe (18-25 g), Les animaux ont été mis à jeun avant l'expérience, les extraits ont été administrés par voie orale à la dose de 1000 mg/kg de poids corporel et la mortalité a été observée pendant la période de 24 heures, les résultats sont cités dans le **tableau 13**.

4-Œdème de l'oreille induit par l'huile de Croton (Tubaro et al., 1986 ; Vogel, 2002) :

Le modèle de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton, selon la méthode de **Tubaro et al, (1986)** est utilisé sur quatre groupes de souris. Dans ce protocole, 2 µg/20 µl d'huile de croton sont utilisés pour l'œdème de l'oreille et appliqués localement. Ils se sont servis d'un groupe pour le véhicule, un groupe pour l'extrait 200 mg/kg et un autre pour l'extrait 400 mg/kg, et un groupe pour le diclofénac sodique. L'huile de croton a été appliquée une heure plus tard dans l'oreille droite des souris ensuite les deux oreilles ont été coupées et pesées après 3 heures.

5-Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris :

Quatre groupes de 24 souris ont été utilisés, pour le véhicule, pour l'extrait 200 mg/kg et pour l'extrait 400 mg/kg, le 4^{ème} groupe pour le diclofénac sodique qui a été utilisé comme médicament anti-inflammatoire par voie orale. L'acide acétique a été administré par voie intrapéritonéale une heure après, les souris reçoivent une injection de 10 ml/kg d'une solution de bleu d'Evans. Les animaux ont été sacrifiés après 30 minutes et les viscères exposés. Le liquide péritonéal (exsudats) a été recueilli et le volume a été complété à 10 ml en utilisant une solution saline normale. Il a été centrifugé 10 minutes. L'absorbance a été notée à 610 nm.

Interprétations des résultats

Le rendement en pourcentage des extraits éthanoliques et aqueux se sont avérés être de l'ordre de 10,25% et 9,20% respectivement montré sur le tableau suivant :

Tableau 11. Rendement des extraits éthanoliques et aqueux.

Partie de la plante	Extrait éthanolique (%)	Extrait aqueux (%)
Fruit	12.50	9.20
Racine	10.50	9.35
Plante entière	13.25	9.20

Partie 2 : Analyses des articles

La Phytochimie préliminaire des deux extraits de plante entière de *R. ulmifolius*. Des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes et des saponines étaient présents. Les résultats sont cités dans le **tableau 12**.

Tableau 12. Criblage phytochimique

Extraits	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Stéroïdes	Saponines
Extrait éthanolique de fruits	Présent	Présent	Présent	Présent
Extrait aqueux de fruits	Présent	Absent	Présent	Absent
Extrait éthanolique de racine	Présent	Présent	Absent	Présent
Extrait aqueux de racine	Présent	Présent	Présent	Présent
Extrait éthanolique de la plante entière	Présent	Présent	Présent	Présent
Extrait aqueux de la plante entière	Présent	Présent	Présent	Présent

Dans l'étude de toxicité aiguë, les extraits n'ont montré aucune mortalité à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel donc elle a été considérée comme la dose seuil LD50 (dose sûre) donc 1/10 et 1/5 de celle-ci ont été sélectionnés (200 mg/kg p.c.) et (400 mg/kg p.c.) pour toutes les expériences *in vivo*. Les résultats sont cités dans le **tableau 13**.

Tableau 13. Etude de la toxicité

Groupe de traitement	Dose mg/kg	Nombre d'animaux utilisés	Nombre de morts d'animaux	%Mortalité
Extrait d'éthanol (plante entière)	2000	10	0	0

Tableau 14. Œdème de l'oreille induit par l'huile de Croton

Groupe de traitement	Nb de différence de poids
Véhicule	23,5±4,03
Extrait 200mg/kg	26,66± 8,75
Extrait 400mg/kg	25.16 ±5.77
Standard	24.23±2.11

Nombre d'animaux dans chaque groupe -6

Données présentées en moyenne ±ET

Variation significative par rapport au groupe traité par le véhicule.

Tableau 15. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique

Groupe de traitement	Absorbance du colorant
Véhicule	0,169±0,068
Extrait 200mg/kg	0,26±0,06
Extrait 400mg/kg	0,294 ±0,027
Standard	0.1823±1.01

Nombre d'animaux dans chaque groupe -6

Données présentées en moyenne ±ET

Variation significative par rapport au groupe traité par le véhicule.

Discussion

Les études de toxicité montrent que l'extrait éthanolique ne présentait aucun signe de toxicité jusqu'à la dose de 2000 mg/kg, qui a été considérée comme la dose maximale tolérable pour la présente étude. Ainsi les doses choisies étaient de 200 mg/kg et 400 mg/kg, le 1/ 10^{ème} et le 1/ 20^{ème} de 2000 mg/kg.

L'extrait de *R. ulmifolius* a été testé pour son activité anti-inflammatoire. L'extrait a montré une activité anti-inflammatoire significative. Lorsque l'extrait a été étudié pour son effet sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton, il a été constaté que dans le groupe traité par le véhicule, la variation de poids dans l'oreille était de $23,5 \pm 4,03$, ce qui n'a pas diminué de manière significative ($p > 0,05$) dans l'extrait 200 mg/kg ($26,66 \pm 8,75$) et 400 mg/kg ($25,16 \pm 5,77$). Lorsque les extraits ont été comparés au groupe traité par le médicament standard (**Tableau 14**), les extraits semblent significatifs et efficaces.

Lorsque l'extrait a été traité pour son effet sur la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique, il a été constaté que dans le groupe traité par le véhicule, l'absorbance du colorant était ($0,169 \pm 0,068$) qui n'a pas diminué de manière significative ($p > 0,05$) dans l'extrait 200 mg/kg ($0,26 \pm 0,06$) et 400 mg/kg ($0,294 \pm 0,027$) groupe traité (**Tableau 15**). L'extrait 200 mg/kg ainsi que le groupe traité à 400 mg/kg ont montré une bonne inhibition de l'inflammation par rapport au médicament standard.

Article 4

Profil d'acides gras et activité antimicrobienne des extraits de *Rubus ulmifolius* Schott contre la bactérie cariogène *Streptococcus mutans* (Porcedda et al., 2021).

L'objectif de l'étude

Cette étude a été réalisée sur différents extraits de feuilles de *R. ulmifolius* séchées afin d'étudier l'activité antibactérienne contre la principale bactérie cariogène, *Streptococcus mutans*. Plusieurs méthodes ont été réalisées pour évaluer le profil antimicrobien de chaque extrait.

Matériel et méthodes

Préparation du matériel végétal

-Des feuilles de *R. ulmifolius* ont été récoltées dans la région de Masullas (Italie) en mai 2019.

-Tous les produits chimiques utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique. Normes d'acides gras (FA) et des solvants de haute pureté ont été achetés chez Sigma.

-Le matériel végétal a été séché à l'air à température ambiante pendant sept jours. Ensuite, il a été broyé dans un mélangeur, pour être soumis à trois méthodologies différentes d'extraction.

1/ Extraction par fluide supercritique : L'extraction par fluide supercritique (SFE) a été réalisée dans un appareil de laboratoire. L'extraction - en mode semi-batch - a été réalisée au moyen d'un flux continu de CO₂ à travers un lit fixe de la matière végétale. L'extrait obtenu a été marqué F1.

2/ Extraction par solvant : La poudre de plante a été transférée dans une cartouche d'extraction de cellulose et insérée dans un montage Soxhlet. Les extraits ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C, et les extraits secs obtenus, marqués F2.

3/ Les matières végétales ont été macérées dans l'éthanol et du méthanol pendant 48 h à température ambiante. Après filtrage, les extraits d'éthanol et de méthanol ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif pour donner respectivement les extraits F3 et F4.

Saponification de l'huile et analyse des acides gras de l'huile : Les extraits F1-F4 obtenus à partir de feuilles de *R. ulmifolius* par différentes méthodes d'extraction ont été soumis à une légère saponification comme indiqué précédemment (Rosa et al., 2017). La quantification des acides gras des extraits de feuilles de *R. ulmifolius* a été évalué par analyse HPLC/DAD/ELSD en phase inverse.

Partie 2 : Analyses des articles

Activité antibactérienne

1/Essai de diffusion sur gélose : *Streptococcus mutans* a été utilisé dans ce travail. La souche a été inoculée sur une surface de boîte de Pétri contenant un milieu gélosé. Après 24 h d'incubation, le diamètre d'inhibition a été mesuré (Nardi et al., 2020).

2/Tests de dilution de bouillon, MIC et MBC : La concentration minimale inhibitrice et bactéricide ont été évaluées par une procédure décrite dans les protocoles du Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (Orru et al., 2017).

3/Dosage antibiofilm : La concentration minimale inhibitrice du biofilm (MBIC) a été évaluée selon le « protocole de coloration au cristal violet » (Nardi et al., 2020).

Analyses statistiques

Le logiciel Graph Pad INSTAT (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) a été utilisé pour évaluer les différences statistiques. La comparaison entre les groupes de données a été évaluée par une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie du test de comparaisons multiples de Bonferroni (test post hoc). Les valeurs avec $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant le test du chi carré de Pearson pour l'activité antimicrobienne.

Discussions des résultats

Les valeurs de concentration (exprimées en mg/g d'extrait sec) des principales substances Acide gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) mesurés dans les extraits F1-F4 sont présentés dans la **figure 15**.

Tous les extraits sont caractérisés par une concentration comprise entre (25 et 36 %) d'acides gras saturés principalement acide palmitique (16:0) et acide stéarique (18:0), de (3 à 5%) d'acides gras monoinsaturés, acides oléiques (18:1 n-9); et de (60 à 70 %) d'acides gras polyinsaturés, constitués acides linoléiques (18:2 n-6) et acides α -linoléiques (18:3 n-3). Des différences significatives ont été observées entre les différents extraits dans les quantités absolues d'acides gras. Le principal acide gras de tous les extraits de feuilles de *R. ulmifolius* était l'acide α -linoléique soit en moyenne (185 ± 16 mg/g), (64 ± 18 mg/g), ($8,05 \pm 0,09$ mg/g) et ($53,98 \pm 0,02$ mg/ de poids sec) dans les extraits F1, F2, F3 et F4, respectivement. L'extrait F1 obtenu par extraction SFE a montré la quantité totale d'AG la plus élevée ($352,58$ mg/g de poids sec), suivi de $F2 > F4 > F3$, (**Figure 15**).

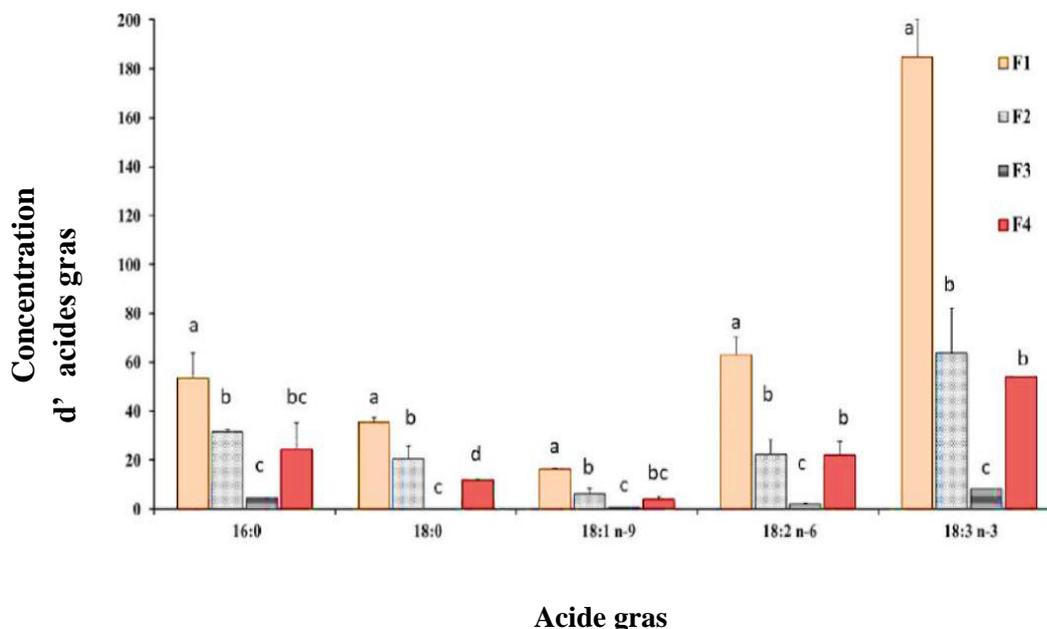


Figure 15. Concentration en acides gras liée aux extraits de *R. ulmifolius*. Extraction supercritique (F1), extraction au solvant par macération avec extrait méthanolique (F3) et extrait éthanolique (F4) et par appareil Soxhlet dans le n-hexane (F2).

Suite au test de diffusion-sensibilité, trois formules obtenues par (1) extraction supercritique, (2) Soxhlet dans du n-hexane, et (3) extrait au méthanol, ont montré un profil d'inhibition significatif contre *S. mutans*. Mais cette analyse Kirby-Bauer a montré que l'extrait d'éthanol n'a pas démontré d'activité antimicrobienne appréciable contre ce pathogène, **figure 16**. Ces résultats ne semblent pas être corrélés au profil d'acides gras formulés. Comme le montre la **figure 15**, l'extrait méthanolique le plus actif contenait une concentration d'acides gras de 50 à 150 fois inférieure à d'autres formules analysées. Ces données sont en accord avec des études antérieures rapportant principalement le profil antibactérien de *R. ulmifolius* aux composés phénoliques (**Tabarki et al., 2017**) à savoir l'acide ellagique (**Quave et al., 2012**), la quercétine-3-O-bêta-D-glucuronide, kaempférol-3-O-bêta-D-glucuronide, acide gallique, acide férulique, tiliroside (**Panizzi et al., 2002**) et Rubantrone A (**Flamini et al., 2002**). Pour cette raison, l'extrait à l'éthanol a été exclu pour l'évaluation CMI, CMB et CMBI.

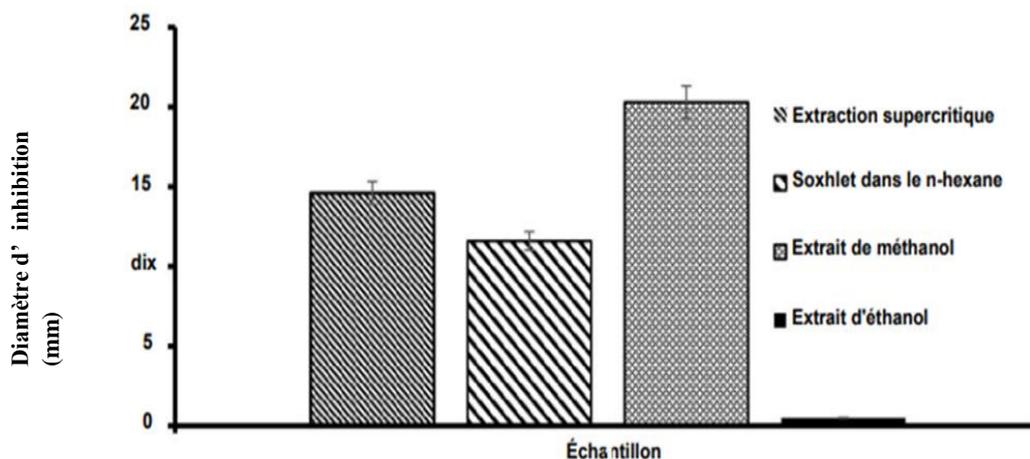


Figure 16. Test de sensibilité antimicrobienne (Kirby Bauer) de 4 extraits différents de *R. ulmifolius* contre la bactérie cariophatogène *S. mutans*.

Une inhibition bactérienne et une activité bactéricide ont été observées pour une concentration d'extrait >50 % pour les procédures supercritiques et Soxhlet n-hexane. Seul l'extrait méthanolique a montré des valeurs intéressantes de CMI et CMB, 6,25 % et 25 % respectivement (Tableau 16). Cette expérience est conforme à Tabarki et al, (2017) qui ont décrit l'activité des feuilles extraites au méthanol contre différents agents pathogènes humains non oraux (Tabarki et al., 2017) et avec Martini et al, (2009) qui citent une activité contre *Helicobacter pylori*. Cependant, ces résultats sont innovants dans ce contexte car les extraits de *R. ulmifolius* ne sont pas encore mentionnés dans la littérature comme anti-*S. mutans*. De même, aucune donnée n'existe sur les feuilles de *R. ulmifolius* et leur activité antibiofilm.

Tableau 16. Les valeurs de CMI, CMB et CMBI *S. mutans* observées avec des extraits actifs de *R. ulmifolius*

Souche	Extraction supercritique			Soxhlet dans le n-hexane			Extrait de méthanol		
	% poids/volume			% poids/volume			% poids/volume		
	MIC	MBC	MBIC	MIC	MBC	MBIC	MIC	MBC	MBIC
<i>S. mutans</i> CIP03220	>50	>50	1.56	>50	>50	1.56	6.25	25	1.56

Partie 2 : Analyses des articles

Les résultats présentés dans le **tableau 16** ont démontré qu'une activité d'inhibition complète du biofilm était observée jusqu'à 1,56 % pour les trois formules. Mais une réduction appréciable du biofilm a été observée jusqu'à la concentration d'extrait de 0,05 %, **Figure 17**. Cette évaluation a de nouveau montré que l'extraction à base de méthanol est la plus efficace par rapport aux autres méthodes étudiées. Dans ce cas, le biofilm résiduel était de 28 % par rapport au témoin positif (100 %), avec une réduction effective d'environ 72 %. Les autres formules ont démontré un biofilm résiduel de 56 % et 62 %, respectivement, pour les méthodes d'extraction supercritique et Soxhlet n-hexane. Suivant l'objectif de cette étude, une "évaluation de l'inhibition de la formation de biofilm" pour un candidat anticaries est strictement cruciale. En fait, la maladie carieuse pourrait être représentée comme une "maladie liée au biofilm" et normalement, la pratique médicale – dentaire prévoit trois étapes différentes de prophylaxie :

- 1/ contrôle de la croissance de la plaque supra gingivale en utilisant des antimicrobiens, c'est-à-dire des bains de bouche, du dentifrice.
- 2/ éloignement mécanique de la plaque résiliente
- 3/ éviter la reformation de la plaque par un dentifrice anti plaque, antibactérien, etc (Nascimento et al., 2019 ; Mirza et al., 2019).

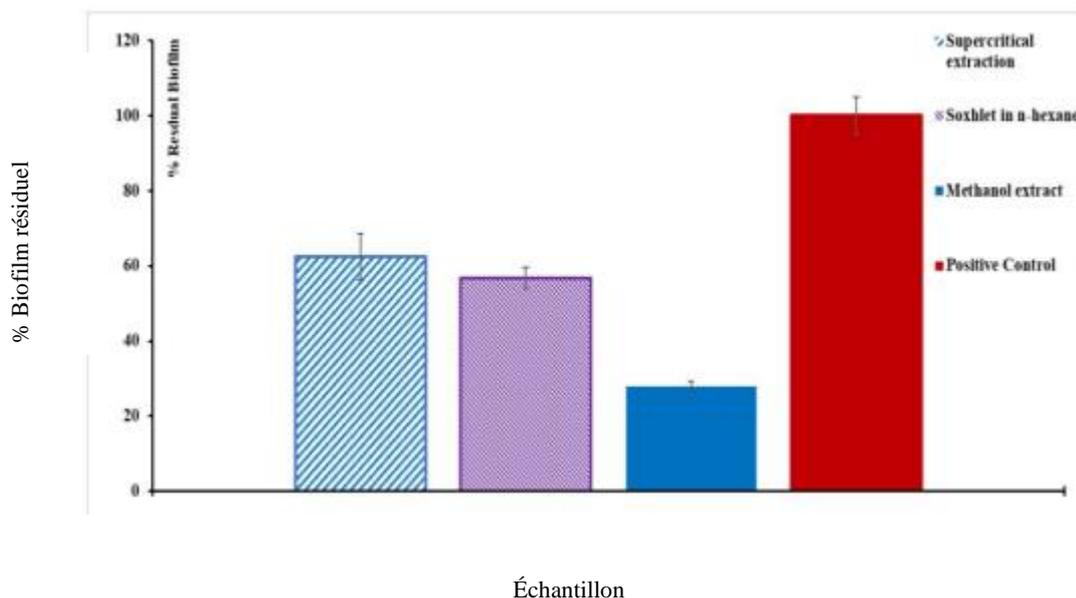


Figure 17. Biofilm résiduel en utilisant 0,05 % de 3 extraits différents de *R. ulmifolius*.

Discussion générale

Les plantes contribuent grandement au maintien de la santé et à l'amélioration de la qualité de vie. Au cours des dernières années, l'utilisation et la mise au point des extraits de différentes plantes est devenue un secteur important de la recherche, plusieurs études se sont centralisées sur les plantes médicinales connues comme une énorme source de substances végétales caractérisées par des activités biologiques intéressantes et susceptibles de servir à combattre certaines pathologies (**Lazli et al., 2019**).

Différentes espèces de *Rubus* synthétisent plusieurs substances médicalement actives. La plupart de ces composés phytochimiques sont des dérivés de composés phénoliques, d'alcaloïdes, de glycosides et de terpenoïdes. Il a été rapporté que *R. ulmifolius* contient des composés phénoliques en particulier des flavonoïdes (**Hummer, 2010**). De plus, ces composés sont connus pour leur capacité à inhiber la production de radicaux libres et donc améliorer la capacité antioxydante endogène des cellules (**Giovinazzo et Grieco, 2015**).

Le criblage phytochimique de la première étude a affirmé la présence de plusieurs classes de composés phytochimiques dans les extraits de *Rubus ulmifolius* comme les alcaloïdes, les tains et les flavonoïdes... etc (**Ali et al., 2017**). Il a même été démontré que ces mêmes extraits étaient sans danger à des doses très élevées. Néanmoins, l'extrait riche en flavonoïdes peut avoir des constituants cytotoxiques ainsi que cette étude justifie que la plante puisse être une source potentielle pour l'isolement d'agents bioactifs de molécules anticancéreuses (**Sökmen, 2001 ; Anderson et al., 1991**).

En effet, ces composés phénoliques plus particulièrement les flavonoïdes d'après plusieurs études auraient le pouvoir d'inhiber la production des radicaux libres et ainsi améliorer la capacité antioxydante endogène des cellules (**Giovinazzo et Grieco, 2015**).

De plus, les résultats obtenus ont montré d'une part que les deux extraits de *R. ulmifolius* ont démontré une activité de piégeage des radicaux libres du DPPH mais que celle de l'extrait riche en flavonoïdes était comparable à celle de l'acide ascorbique. D'autre part les extraits ont tous deux démontré une activité antipyrétique après diminution de la pyrexie induite chez les rats de 74% et donc les effets antipyrétiques des extraits de *Rubus ulmifolius* S. sont comparable aux effets antipyrétiques du paracétamol.

Discussion générale

Ali et al, (2017) indiquaient aussi que l'activité antioxydante et antipyrétique observée peut être attribuées à la présence de flavonoïdes comme constituants actifs.

Ces conclusions confirment que les rapports selon lesquels les espèces de *Rubus* sont extrêmement abondant avec des contenus phénoliques comme les flavonoïdes, les acides phénoliques et les anthocyanes. Il a été rapporté que des composés possèdent des propriétés antioxydantes, propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Sariburun et al., 2010**).

En effet, **Triggiani et al, (2012)** ont affirmé que l'utilisation des concentrations d'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* progressivement de 3 à 30 µl/ml inhibait la prolifération cellulaire de myélome murin P3X. Ensuite, grâce à une approche protéomique comparative, ils ont trouvé que 45 spots protéiques montraient des niveaux significatifs de modifications dans les cellules P3X traitées avec l'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* en indiquant probablement une protéolyse massive surtout à des concentrations élevées de cet extrait. Les chercheurs ont également identifié la Peroxiredoxine1 (Prdx1) qui jouerait un rôle important dans la défense contre le stress oxydatif, c'est pourquoi le *R. ulmifolius* a été vivement recommandé dans la prévention du cancer et des pathologies impliquant une production excessive des radicaux libres. De plus, un rôle important de Prdx1 en tant que régulateur négatif de l'inflammation a récemment été démontré (**Kisucka et al., 2008**).

Dans ce contexte, **Pandey et al. (2013)** ont évalué le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *R. ulmifolius*, qui a révélé une activité significative jusqu'à la dose de 2000 mg/kg la dose maximale de la toxicité. Lorsque cet extrait a été testé pour son effet sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton, il a été constaté que l'administration de l'extrait de 200 mg/kg ($26,66 \pm 8,75$) et 400 mg/kg ($25,16 \pm 5,77$) semblait significative et efficace par rapport au médicament anti-inflammatoire Diclofénac. Puis lorsque l'extrait a été testé pour son effet sur la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique, il avait une capacité d'adapter et de contrôler l'amplitude de l'inflammation, ça correspond à un fort pouvoir anti-inflammatoire qui permet de soulager diverses maladies inflammatoires.

Enfin, le *R. ulmifolius* présentait aussi une excellente activité antimicrobienne selon les résultats de **Procedda et al. (2021)**. Ils ont prouvé que les extraits obtenus à partir de cette plante sont caractérisés par des composés contre les microbes tels que les composés phénoliques, et que le comportement de la bactérie *Streptococcus mutans* avec les différents extraits était strictement lié au type de méthode d'extraction, même s'il n'était pas lié à la quantité et à la composition des acides gras. En fait, tous les extraits présentaient des schémas d'AG qualitatifs similaires,

Discussion générale

caractérisés par une concentration dans la gamme de (25 à 36%) de composés saturés. L'extrait méthanolique a montré le meilleur résultat avec une CMI de 6,25 %. Ces résultats préliminaires encouragent d'autres études pour l'utilisation de *R. ulmifolius* dans des bains de bouche ou des dentifrices vu qu'elle est dotée d'une grande activité anti-caries.

Conclusion

Conclusion

A l'état naturel, la végétation recouvre la quasi-totalité de la zone émergée de la planète. Les rapports entre les plantes et l'homme sont aussi vieux que l'humanité elle-même, les végétaux furent d'ailleurs la première colonisation du globe. La phytothérapie moderne est considérée comme une ramification de la médecine classique qui est fondée sur l'emploi de substances actives d'origine végétale.

Plusieurs médicaments sont retirés du marché pour leurs effets secondaires néfastes sur la santé humaine c'est pour cela les plantes médicinales se sont avérés être une source d'inspiration pour le développement de nouveaux médicaments car elles possèdent des propriétés curatives en raison de leurs substances actives dans leurs différentes parties.

Les chercheurs scientifiques se sont concentrés sur l'étude des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. afin d'évaluer leurs activités biologiques et leurs effets thérapeutiques sur la santé et ceci grâce à la présence de composés phytochimiques bioactifs.

Ainsi le travail que nous avons abordé, repose sur la mise en évidence de la présence de composés bioactifs et l'évaluation de leurs diverses activités biologiques à travers une analyse d'articles scientifiques traitant cette thématique.

Rubus ulmifolius S. contient un grand nombre de métabolites secondaires qui ont des intérêts multiples mis à profit de la pharmacologie, la cosmétologie et de l'industrie alimentaire. Parmi ces principes actifs, on retrouve les composés phénoliques (les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques), les alcaloïdes et les terpénoïdes mais par contre on retrouve une faible quantité de métabolites primaires (lipides, protéines et glucides).

L'intérêt croissant pour cette plante aboutie a maintes recherches et études attribuant aux feuilles de *Rubus ulmifolius* S. une activité antioxydante remarquable et comparable à celle des antioxydants standards, une activité antibactérienne, antiinflammatoire ainsi qu'une activité antiproliférative.

On peut conclure à travers ces résultats et ces articles analysés que les feuilles de *Rubus ulmifolius* S. ont un effet bénéfique sur l'amélioration de la santé humaine, mais aussi elles peuvent jouer un rôle important dans la prévention et la protection contre plusieurs maladies. Pour cela la pharmacologie moderne considère la plante de *R. ulmifolius* comme une source prometteuse de nouveaux agents thérapeutiques.

Références bibliographiques

-A-

Abdeli, W. S. *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris*. Doctoral dissertation, Univeristé de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis. 2017.

Abedini, A. (2013). Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'HyptisatrorubensPoit (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. *Médecine humaine et pathologie*. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2013. Français. NNT : 2013LIL2S025.

Ackermann, M., Verleden, S.E., Kuehnel, M., Haverich, A., Welte, T., Laenger, F., Vanstapel, A., Werlein, C., Stark, H., Tzankov, A., Li, W.W., Li, V.W., Mentzer, S.J., Jonigk, D. (2020). Pulmonaryvascularendothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 383 : 120-128.

Ahmad, M., Masood, S., Sultana, S., Hadda, T. B., Bader, A., & Zafar, M. (2015). 705 Antioxidant and nutraceutical value of wildmedicinal Rubus berries. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(1) : 241–247.

Ahmad N, Anwar S, Fazal H, Abbasi 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.

Akhtar, K., Shah, S.W.A., Shah, A.A., Shoaib, M., Haleem, S.K., &Sultana, N. (2017). Pharmacologiceffect of Rubus ulmifolius Schott as antihyperglycemic and antihyperlipidemic on streptozotocin (STZ)-inducedalbinomice. *Applied Biological Chemistry*, 60(4) : 411-418.

Alberti, KG., Zimmet, P. (2008). Definition, diagnosis and classification of diabetesmellitus and its complications : diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional. *DiabetMed*, 15 (7) : 539-553.

Ali, N., Shah, SW., Shah, I., Ahmed, G., Ghias, M, Khan. (2011). Cytotoxique et potentiel vermifuge des saponines brutes isolées d'AchilleaWilhelmsii C. Koch et TeucriumStocksianumboiss. *Complément BMC Altern Med*, 11(1) : 106.

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

Alikhani Pour, M., Sardari, S., Eslamifar, A., Azhar, A, Rezvani, M., Nazari, M. (2017). Cheminformatics - based anticoagulant study of traditionally used medicinal plants. *IranianBiomedical Journal*, 21(6) : 400–405.

Al-Laith, A.A.A. (2010). Antioxidant components and antioxidant/antiradicalactivities of desert truffle (Tirmanianivea) fromvarious Middle Easternorigins. *J. Food Compos. Anal*, 23(1) : 15-22.

Amjad, L., Shafighi, M. (2013). Evaluation of antioxidantactivity, phenolic and flavonoid content in Punicagranatum var. Isfahanmalasflowers. *Int J AgricCropSci*, 5(10) : 1133.

Anderson, J., Goetz, C., McLaughlin, J., Suffness, M. A. (1991). Blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumorprescreens. *PhytochemAnal*, 2(3) : 107–11.

Références bibliographiques

Aronoff, D.M., Neilson, E.G. (2001). Antipyretics : mechanisms of action and clinical use infever suppression. *Am J Med*, 111(4) : 304–15.

Aronoff, D.M., Oates, J.A., Boutaud, O. (2006). New insights into the mechanism of action of acetaminophen : Its clinicalpharmacologic characteristics reflectits inhibition of the twoprostaglandin H2 synthases. *ClinicalPharmacolTher*, 79(1) : 9–19.

Awika, J.M., & Rooney, L.W. (2004). Sorghum phytochemicals and theirpotential impact on humanhealth. *Phytochemistry*, 65 (9) : 1199-1221.

-B-

Bakli, Sabrina. *Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques des quelques plantes médicinales locales. Thèse de doctorat : biologie microbiologie.* Sétif 1 : Université Ferhat Abbas, 2020, 216p.

Bandeira Reidel, R., Melaï, B., Cioni, P., Flamini, G., Pistelli, L. Profil aromatique des fleurs et des fruits de *Rubus ulmifolius* au cours de phases ontogénétiques. *Département de pharmacie, Université de Pise, Via Bonanno*, 2016, 6, 56126.

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.

Benaissa, O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique.Constantine*. 63.

Bensakhria A. (2018). Toxicologie Générale-Le stress Oxydatif. Pp : 70-89.

Benslama, A. Substances d'Origine Végétale. *Université Mohamed KhiderBiskra*,2016, 68.

Bezzaz, N. Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentharotundifolia*. Mémoire de magistère : chimie organique. M'sila : Université de M'sila. Algérie, 2014, page 14.

Bouakaz, I. Etude phytochimique de la plante *GenistaMicrocephala*. Mémoire de magister, Batna. Algérie, 2006.

Boudjouref, M. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif, 2011.

Boukef, M. K. (1986). Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique, Paris. Francia, pp : 208.

Bousta, D., &Ennabili, A. (2011). L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. *Phytothérapie*, 9(5) : 297-303.

Bradford MM (1976). Une méthode rapide et sensible pour la quantification demicrogrammes de protéines utilisant le principe de la liaison protéine-colorant. *AnalyticalBiochemistry*, 72 : 248-254.

Brown, M.E., IR Gill, C., J McDougall, G., & Stewart, D. (2012). Mechanisms under lying the anti-proliferative effects of berry components in in vitro models of colon cancer. *Currentpharmaceuticalbiotechnology*, 13(1) : 200-209.

Références bibliographiques

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie des Plantes médicinales. Lavoisier, Paris. 406-422p.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, Paris : 1292p.

Buckwold, F. J., Ronald, A. R. (1979). “Antimicrobial misuse – effects and suggestions for control”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 5 : 129-136.

-C-

Cao, J., Schulte, J., Knight, A., Leslie, N.R., Zagozdzon, A., Bronson, R., Manevich, Y., Beeson, C., Neumann, C.A. (2009). Prdx1 inhibe la tumorigenèse via la régulation de l'activité PTEN/ AKT. *The EMBO Journal*, 28 (10) :1505-1517.

Chauhan, A., Sharma, P. K., Srivastava, P., Kumar, K., Dudhe, R. (2010). Plants Having Potential Antidiabetic Activity : A Review ; *Der Pharmacia Lettre*, 2(3) : 369-387.

Chavan, U.D., Shahidi, F., Naczk, M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75 (4) : 509.

Chen, C., Yang, F.Q., Zhang, Q., Wang, F.Q., Hu, Y.J., Xia, Z.N. (2015). Produits naturels pour l'antithrombose. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves*, 1-18.

Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1) : 223-229.

Choi, S.J., Lee, Y.S., Kim, J.K., Chung, C.K., Kang, I.J., Lim, S.S. (2011). Antioxidant activity of ripe fruit components of *Rubus coreanus* : extraction using porous polymer resins. *Korean J Food Sci Technol*, 43(2) : 149–55.

Codoñer-Franch, P., Valls-Bellés, V., Arilla Codoñer, A., Alonso-Iglesias, E. (2011). Oxidant mechanisms in childhood obesity : the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Res*, 158(6) : 369-384.

Cohen, F.S. (2016). How viruses invade cells. *Biophysical Journal*, 110(5) : 1028–1032.

Cook, J.A., Mitchell, J.B. (1989). Mesures de viabilité dans le système de cellules de mammifères. *Biochimie analytique*, 179 (1) : 1-7.

Crozier, A., Clifford, M. N., Ashihara, H. (2006). Plant Secondary Metabolites, Occurrence, structure and role in the human diet, Institut of biomedical and life science, University of Glasgow, UK. First published in 2006 by Blackwell Publishing Ltd.

Cumova, J., Potacova, A., Zdrahal, Z., Hajek, R. (2011). Analyse protéomique dans la recherche sur le myélome multiple. *Molecular Biotechnology*, 47 (1) : 83-93.

-D-

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2) : 174–181.

D'Agostino, M. F., Sanz, J., Sanz, M. L., Giuffré, A. M., Sicari, V., Soria, A. C. (2015). Optimization of a solid-phase microextraction method for the gas chromatography-mass spectrometry analyses of blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott) fruits volatils. *Food chemistry* 178 : 10-17.

Références bibliographiques

Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Cecilia Loi, M., Innocenti, G. (2007). Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants : Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Food Chemistry*, 106 : 745–749.

Dangles, O., et Deluzarche, M. (1994). Flavonoïdes et anthocyanes. *Laboratoire de chimie des polyphénols*, 88.

Daoudi, A., Bammou, M., Zarkani, S., Slimani, I., Ibijbijen, J., Nassiri, L. (2015). Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la commune rurale d'Aguelmous province de Khénifra (Maroc), *Phytothérapie*, 17 : 1-10.

D'archivio, M., Cfilesi, R., Dibenedetto, R., Gargiulo, C., Giovannini, et Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita, Ed* : Horace, Perse et juvénal, 43(4) : 348-61.

Da Silva, L.P., Pereira, E., Pires, T.C., Alves, M.J., Pereira, O.R., Barros, L., & Ferreira, I.C. (2019). *Rubus ulmifolius* Schott fruits : A detailed study of its nutritional, chemical and bioactive properties. *Food research international*, 119 : 34-43.

Decloitre, F. (1993). Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse : bases d'une prévention des cancers par l'alimentation. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 28(2) : 85-95.

De la Rosa, L., Rodrigo-García, J., Alvarez-Parrilla, E. Les composés phénoliques, Physiologie post-récolte et biochimie des fruits et légumes. Université autonome de Ciudad Juárez, Mexique, 2019.

Deshane, J., Chaves, L., Sarikonda, K.V., Isbell, S., Wilson, L., Kirk, M., Grubbs, C., Barnes, S., Meleth, S., Kim, H. (2004). Analyse protéomique des modulations des protéines cérébrales de rat par extrait de pépins de raisin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26) : 7872-7883.

De Souza, V.R., Pereira, P.A.P., da Silva, T.L.T., Lima, L.C. de O., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, redraspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156 : 362–368.

Dinnis, D.M., Stansfield, S.H., Schlatter, S., Smales, C.M., Alete, D., Birch, J.R., Racher, A.J., Marshall, C.T., Nielsen, L.K., James, D.C. (2006). Analyse protéomique fonctionnelle des lignées cellulaires de myélome murin GS-NS0 avec différents anticorps monoclonaux recombinants taux de production. *Biotechnology and Bioengineering*, 94 (5) : 830-841.

Drexler, M. (2010). What you need to know about infectious disease. Washington (DC) : *The National Academies Press (US)*.

-E-

Earle, R.R., Subramanyam, P.V. (2014). A review on microneedles : an emerging transdermal drug delivery system. *Indo AM J Pharm Res*, 4 : 1917–22.

-F-

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64 : 390–396.

Références bibliographiques

Félix-Silva, J., Souza, T., Camara, R.B.B.G., Cabral, B., Silva-Júnior, A.A., Rebecchi, I. M.M., ... & Fernandes-Pedrosa, M.D.F. (2014). In vitro anticoagulant and antioxidant activities of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) leaves aiming therapeutic applications. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1) : 1-13.

Ferrez, Y., & Royer, J.M. (2016). 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 : 121-141.

Flamini, G., Catalano, S., Caponi, C., Panizzi, L., Morelli, I. (2002). Three anthrones from *Rubus ulmifolius*. *Phytochemistry*, 59 : 873-876.

Folta, K.M., & Gardiner, S.E. (2009). Genetics and genomics of Rosaceae. *New York : Springer*, 6 : 411-506.

Friedman, M. (2017). Chimie, mécanisme antimicrobiens et activités antibiotiques des cinnamaldéhyde contre les bactéries pathogènes dans l'alimentation animale et humaine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(48) : 10406-10423.

Furie, B., Furie, B.C. (2007) : Formation de thrombus in vivo. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(1) : 12-17.

-G-

Garcia-Lafuente, A., Guillamon, E., Villares, A., Rostagno, M.A., Martinez, J.A. (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents : implications in cancer and cardiovascular disease. *InflammRes*, 58 : 537-552.

Garrigues, J.C., Pereze, E., Linas, M.D., Ricolattes, S.J.P., Lattes, A. (1996). Tests in vitro et études quantitatives de relation structures-activité (QSAR) pour la détermination des propriétés anti-aspergillaires d'une série d'analogues de glycolipides. *Journal de Mycologie Médicale*, 6 : 111-117.

Giannis, D., Ziogas, I.A., Gianni, P. (2020) : Troubles de la coagulation chez les patients infectés par le coronavirus : COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV et leçons du passé. *Journal of Clinical Virology*, 127 : 104362-104365.

Giovinazzo, G., & Grieco, F. (2015). Functional properties of grape and wine polyphenols. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4) : 454-462.

Güder, A., Korkmaz, H. (2012). Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts *Urtica dioica* L., *Malva neglecta* Wallrand their mixture. *Iran J Pharm Res*, 11(3) : 913.

Gorris, L. G. M., & Smid, E. J. (1995). Crop protection using natural antifungal compounds. *Pesticide Outlook*, 6(5) : 20-24.

Goto, T., et Kondo, T. (1991). *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 30 : 17-33.

-H-

Hager, T. J., Howard, L. R., Liyanage, R., Lay, J. O., & Prior, R. L. (2008). Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(3) : 661-669.

Références bibliographiques

- Hajaji, S., Jabri, M. A., Sifaoui, I., López-Arencibia, A., Reyes-Batlle, M., B'chir, F., Valladares, B., Pinero, J. E., Lorenzo-Morales, J., & Akkari, H. (2017).** Amoebicidal, antimicrobial and in vitro ROS scavenging activities of Tunisian *Rubus ulmifolius*, methanolic extract. *Experimental Parasitology*, 183 : 224-230.
- Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S., Boulemtafes, A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien) schott, methanolic extract. *Experimental Parasitology*, 183 : 224-230.
- Harborne, J.B., and Williams, C.A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55 : 481-504.
- Harborne, J.B., Grayer, R.J. (1988).** Les anthocyanes. Dans : Les flavonoïdes. Springer États-Unis, 1-20.
- Hayek S.A., Gyawal I.R., Ibrahim S.A. (2013).** Microbial Pathogens and strategies for combating Them : science, technology and Education- Volume 2 : Antimicrobial Natural Products. *Formatex Research Center : Badajoz*, 910- 920.
- Heim, K., Tagliaferro, A., Bobilya, D. (2002).** Antioxydants flavonoïdes : chimie, métabolisme et relations structure-activité. *Tourillon de biochimie nutritionnelle*, 13 : 572-584.
- Hertog, M.G., Holiman, P.C., & Katan, M.B. (1996).** Analysis and health effects of flavonoids. *Food chemistry*, 57(1) : 43-46.
- Hireche, S., Belhattab, R., Cherbal, A., & Kebieche, M. (2021).** ANTI-COAGULANT ACTIVITY OF RUBUS ULMIFOLIUS EXTRACTS FROM JIJEL, ALGERIA. *Journal of Applied Biological Sciences*, 15(2) : 126-136.
- Hood, J.L., & Eby, C.S. (2008).** Evaluation of a prolonged prothrombin time. *Clinical chemistry*, 54(4) : 765-768.
- Hopley, L., & Schalkwyk, J. V. (2006).** Mechanisms of resistance to antimicrobials. *National Congress of Microbiology* : 23-25.
- Hosseinpour, M., Mobini-Dehkordi, M., Saffar, B., & Teimori, H. (2013).** Antiproliferative effects of *Matricaria chamomilla* on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 2(2) : 49-51.
- Hummer, K. (2010).** *Rubus* Pharmacology. *Antiquity to the Present*, 45(11) : 1587-1591.
- Hummer, G. (2010).** Molecular binding : Under water's influence. *Nat Chem*, 2(11) : 906-7.
- I-**
- Ilahi, I., Samar, S., Khan, I., Ahmad, I. (2013).** Types de recherche. *Pak J PharmSci*, 26 : 949.
- Iserin, P.** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins. 2nd édition, Dorling Kindersley Limited, Londres. 2001.
- Ishii, T., Yamada, M., Sato, H., Matsue, M., Taketani, S., Nakayama, K., Sugita, Y., Bannai, S. (1993).** Clonage et caractérisation d'un macrophage péritonéal de souris induit par le stress de 23 kDa protéine. *The Journal of Biological Chemistry*, 268 (25) : 18633-18636.

Références bibliographiques

Irwin, K. K., Renzette, N., Kowalik, T. F., & Jensen, J. D. (2016). Antiviral drugresistance as an adaptive process. *Virus Evolution*, 2(1) : 014.

-J-

Jiofack, T., Ayissi, I., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuzen, V. (2009). Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong Valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology*, 3 (4) : 144-150.

Ju HK, Cho EJ, Jang MH, Lee YY, Hong SS, Park JH, Kwon SW. (2009). Caractérisation de l'augmentation des composés phénoliques du Bokbunja fermenté (*Rubus coreanus* Miq) et de l'activité antioxydante associée. *J Pharm Biomed Anal*, 49(3) : 820–7.

-K-

Kang, M.C., Kim, S.Y., Kim, Y.T., Kim, E.A., Lee, S.H., Ko, S.C., Wijesinghe, W., Samarakoon, K.W., Cho, J.H. (2014). In vitro and in vivo antioxidant activities of polysaccharide purified from aloe vera (*Aloe barbadensis*) gel. *Carbohydr Polym*, 99 : 365–71.

Kemassi, A., Darem, S., Cherif, R., Bouali, Z., Sadine, S., Aggoune, M., Ould el hadj-khelil, A., & Ould el hadj, M. (2014). Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab, *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 1(1) : 1-5.

Kim EJ, Lee Y-J, Shin H-K, Park JHY. (2005). Induction of apoptosis by the aqueous extract of *Rubus coreanus* in HT-29 human colon cancer cells. *Nutrition*, 21(11) : 1141–8.

Kim H. (2005). Nouvelle nutrition, protéomique et comment les deux peuvent améliorer les études sur la prévention et le traitement du cancer. *The Journal of Nutrition*, 135 (11) : 2715-2718.

King, A., Young, G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*, 99 : 213-218.

Kishore, K. (2013). Méthodes de criblage in vitro et in vivo pour les agents antithrombotiques. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutic*, 1 : 497-506.

Kisucka, J., Chauhan, A.K., Patten, I.S., Yesilaltay, A., Neumann, C., Van Etten, R.A., Krieger, M., Wagner, D.D. (2008) Peroxiredoxin 1 prévient l'activation endothéliale excessive et l'athérosclérose précoce. *Recherche sur la circulation*, 103 (6) : 598-605.

Krauze-Baranowska, M., Majdan, M., Halasa, R., Glod, D., Kula, M., Fecka, I., Orzel, A. (2014). The antimicrobial activity of fruits from some cultivar varieties of *Rubus idaeus* and *Rubus occidentalis*. *Food & Function*, 5(10) : 2536–2541.

Kumar, S., Brooks, M.S.L. (2017). Utilisation de la betterave rouge (*Beta vulgaris* L.) comme antimicrobiens candidats – Un examen critique. *Technologie des aliments et des bioprocédés*, 1–26.

Kurtto, A., Weber, H. E., Lampinen, R., & Sennikov, A. (2010). Atlas florae Europaeae distribution of vascular plants in Europe: Rosaceae (*Rubus*). *The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo*, 15 : 362.

-L-

- Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., Nouri, N. E. H. (2019).** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala, Nord-est algérien). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 88 : 22 – 43.
- Lekshmi, U.D., Reddy, P.N. (2011).** Preliminary studies on antiinflammatory, antipyretic, and antidiarrhoeal properties of *Evolvulus sinoides*. *Turk J Biol*, 35(5) : 611–8.
- Lemus, I., Garcia, R., Delvillar, E., Knop, G. (1999).** Activité hypoglycémisante de quatre plantes utilisées en médecine populaire chilienne. *Recherche en phytothérapie : PTR*, 13(2) : 91–94.
- Leong, C.N.A., Tako, M., Hanashiro, I., Tamaki, H. (2008).** Antioxydant flavonoïde glycosidés des feuilles de *Ficus pumila* L. *Food Chem*, 109(2) : 415–20.
- Levine, D., Lubensky, T., Ostlund, S., Ramaswamy, S., Joseph Steinhart, P., Toner, J. (1985).** Elasticité et dislocations dans les pentagones et les quasicristaux icosaédriques. *Phys Rev Lett*, 54(14) : 1520–3.
- Lorke, D. (1983).** Une nouvelle approche des tests pratiques de toxicité aiguë. *Arch Toxicol*, 54(4) : 275-187.
- Luo, X., Du, C., Cheng, H., Chen, J. H., Lin, C. (2017).** Étude sur les activités anticoagulantes et procoagulantes de type II des dérivés phénoliques. *Molecules*, 22 : 2047-2062.

-M-

- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presse Polytechniques*.
- Makkar, H.P.S., Siddhuraju, P., et Becker, K., (2007).** Plant Secondary Metabolites, Methods in Molecular Biology. *HUMANA PRESS*, 393 : 1-122.
- Mandal, S., Upadhyay, N., Sharma, I. (2011).** Une étude comparative de l'activité antipyrétique des extraits bruts des parties aériennes de *Glycosmis pentaphylla* et *Bauhinia variegata*. *Recent Res Sci Technol*, 3(7) : 16–8.
- Manganelli RU, Tomei P. (1999).** Études ethnopharmacobotaniques de l'archipel toscan. *J Ethnopharmacol*, 65(3) : 181–202.
- Martini, S., D'Addario, C., Colacevich, A., Focardi, S., Borghini, F., Santucci, A., Figure, N., Rossi, C. (2009).** Activité antimicrobienne contre les souches *Helicobacter pylori* et propriétés antioxydantes des feuilles de mûrier (*Rubus ulmifolius*) et des composés isolés. *Int J Antimicrob Agents*, 34 : 50-59.
- Mazzolari, A.C., Comparatore, V.M., Bedmar, F. (2011).** Lutte contre l'invasion de la mûre à feuilles d'orme dans une réserve naturelle en Argentine. *Journal pour la conservation de la nature*, 19 (3) : 185-191.

Références bibliographiques

- McCutcheon, A.R., Ellis, S.M., Ancock, R.E.W., Towers, G.H.N. (1994).** Antifungal screening of medicinal plants of British Columbian native peoples. *Journal of Ethnopharmacology*, 44 : 157–169.
- Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203) : 428-435.
- Mirza, F., Argosino, K., Ward, M., Ou, S.S. Milleman, K.R., Milleman, J.L. (2019).** A Comparison of the Effect of Two Power Toothbrushes on the Reduction of Gingival Inflammation and Supragingival Plaque. *J Clin Dent*, 30 : 9-15.
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014).** Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & redox signaling*, 20(7) : 1126-1167.
- Mueller-Harvey, I. (2006).** Unravelling the conundrum of Tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric*, 86(13) : 2037.
- Mukhtar, M., Arshad, M., Ahmad, M., Pomerantz, R.J., Wigdahl, B., Parveen Z. (2008).** Potentiels antiviraux des plantes médicinales, 131 : 111–120.
- Munoz, M., Barrera, E., Meza, L.** El Uso Médico y Alimenticio de Plantas Nativas y Naturalizadas en Chile p. 150. *Publicación ocasional* No 33. Museo Nacional de Historia Natural, Santiago, 1981.
- Mutalik, S., Paridhavi, K., Rao, C.M., Udupa, N. (2003).** Antipyretic and analgesic effect of leaves of *Solanum melongena* Linn. *In rodents. Indian J Pharmacol*, 35(5) : 312–5.

-N-

- Naidu, A. S. (2000).** Natural food antimicrobial system. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Nardi, G.M., Fais, S., Casu, C., Mazur, M., Di Giorgio, R., Grassi, R., Grassi, F.R., Orru, G. (2020).** Bain de bouche à base d'huile d'olive ozonée dans la prévention des caries : une étude préliminaire in vitro. *Revue internationale de recherche environnementale et de santé publique*, 17 : 9106.
- Nascimento, M. M., Alvarez, A.J., Huang, X., Browngardt, C., Jenkins, R., Sinhoreti, M.C., Ribeiro, A.P.D., Dilbone, D.A., Richards, V.P., Garrett, T.J. (2019).** Metabolic Profile of Supragingival Plaque Exposed to Arginine and Fluoride. *J Dent Res*, 98 : 1245-1252.
- Neumann, C.A., Krause, D.S., Carman, C.V., Das, S., Dubey, D.P., Abraham, J.L., Bronson, R.T., Fujiwara, Y., Orkin, S.H., Van Etten, R.A. (2003).** Essential role for the peroxiredoxin Prdx1 dans la défense antioxydante des érythrocytes et la suppression des tumeurs. *Nature*, 424 (6948) : 561-565.
- Niaz, K., Momtaz, S., Maqbool, F., Abdollahi, M., Rastrelli, L., & Nabavi, S. M. (2017).** STAT3 targeting by polyphenols : Novel therapeutic strategy for melanoma. *Biofactors*, 43(3) : 347-370.
- Nile, S. H., Park, S. W. (2014).** Edible berries : bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30 : 134–144.

-O-

- O'fel. A.** Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques, Association des professeurs de parasitologie. Paris : E. Crouan et Roques, 1982, p.p. 349.

Références bibliographiques

Okoli, C.O., Akah, P.A., Nwafor, S.V., Anisiobi, A.I., Ibegbunam, I. N., & Erojikwe, O. (2007). Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* CD Adams. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2) : 219-225.

Orru, G., Demontis, C., Mameli, A., Tuveri, E., Coni, P., Pichiri, G., Coghe, F., Rosa, A., Rossi, P., D'Hallewin, G. (2017). L'interaction sélective de l'huile de *Pistacia lentiscus* contre les streptocoques humains, un ancien aliment fonctionnel revisité avec de nouveaux outils. *Front Microbiol*, 8, 206.

Otero, J. M., Vongsangnak, W., Asadollahi, M. A., Olivares-Hernandes, R., Maury, J., Farinelli, L., ... & Nielsen, J. (2010). Whole genome sequencing of *Saccharomyces cerevisiae* : from genotype to phenotype for improved metabolic engineering applications. *BMC genomics*, 11(1) : 1-17.

-P-

Pandey, R., Pandey, R., & Shukla, S.S. (2013). Anti-inflammatory potential of ethanolextract of *Rubus ulmifolius* (Schott). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 6(3) : 300-303.

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

Park Y, Chang H. (2003). Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. *Applied Biological Chemistry*, 46(4) : 367-375.

Park P, Ko JW, Jeong C. (2011). Reciprocally convex approach to stability of systems with time-varying delays. *Automatica*, 47(1) : 235–8.

Patel-Schneider PF, Hayes P, Horrocks I. (2004). OWL web ontology language semantics and abstract syntax. W3C Recomm. Available on : <http://www.w3.org/TR/2004/REC-owl-semantic-210/>.

Peronny, S. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle, 2005.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J.O. (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4(4) : 6-11.

Porcedda, S., Ibba, A., Rosa, A., Maxia, A., Frais, S. (2021). Fatty Acid Profile and Antimicrobial Activity of *Rubus ulmifolius* Schott Extracts Against Cariogenic Bacterium *Streptococcus mutans*. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 12 : 25–33.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S., Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr J Biotechnol*, 5(11) : 1142–45.

-Q-

Quave, C.L., Estévez-Carmona, M., Compadre, C.M., Hobby, G., Hendrickson, H., Beenken, K.E., & Smeltzer, M.S. (2012). Ellagic acid derivatives from *Rubus ulmifolius* inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and improve response to antibiotics. *PloS one*, 7(1) : 28737.

Quiroga, E.K., Sampietro, A.R., Vattuone, M. A. (2000). Dépistage des activités antifongiques de plantes médicinales sélectionnées. *Journal d'ethnopharmacologie*, 74 : 89–96.

-R-

Rashid, K., Sinha, K., Sil, P.C. (2013). An update on oxidative stress-mediated organ pathophysiology. *Food Chem. Toxicol.*, 62 : 584-600.

Rhee, S.G., Chae, H.Z., Kim, K. (2005). Peroxiredoxines : Un aperçu historique et un aperçu spéculatif des nouveaux mécanismes et des concepts émergents dans la signalisation cellulaire. *Free Radical Biology and Medicine*, 38 (12) : 1543-1552.

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

Rosa, A., Maxia, A., Putzu, D., Atzeri, A., Era, B., Fais, A., Sanna, C., Piras, A. (2017). Chemical composition of *Lycium europaeum* fruit oil obtained by supercritical CO₂ extraction and evaluation of its antioxidant activity, cytotoxicity and cell absorption. *Food chemistry*, 230 : 82-90.

Rust, G. J., Baltrus, P., Daniels, E., Adesunloye, B., Fryer, GE. (2008). Practical barriers to timely primary care access : impact on adult use of emergency department services. *Arch Intern Med*, 168(15) : 1705–10.

-S-

Samuel-Peterson, N. (2013). Cultural Competence in the Prevention and Treatment of Cancer : The Case of Blueberries in North America. *Advances in Anthropology*, 3(2) : 65-70.

Sanna, G., Farci, P., Busonera, B., Murgia, G., La Colla, P., and Giliberti, G. (2015). Antiviral properties from plants of the Mediterranean flora. *Nat. Prod. Res.* 29 : 2065–2070.

Sariburun, E., Sahin, S., Demir, C., Turkben, C., Uylaser, V. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *J. Food Sci*, 75(4) : 328-335.

Schulz, M., Chim, J.F. (2019). Nutritional and bioactive value of Rubus berries. *Food Biosci.* 31 : 100438.

Shahidi, F., Janitha, P., Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 32(1) : 67–103.

Shin TY, Kim SH, Lee ES, Eom DO, Kim HM. (2002). Action of Rubus coreanus extract on systemic and local anaphylaxis. *Phytother Re*, 16(6) : 508–13.

Sher H. (2011). Ethnoecological evaluation of some medicinal and aromatic plants of Kot Malakand Agency. *Pak Sci Res Essays*, 6(10) : 2164–73.

SiliCycle Inc. 2017. SiliaPlate – TLC Visualization Methods. Vol. Quebec City. 2017.

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

Smales, C.M., Dinnis, D.M., Stansfield, S.H., Alete, D., Sage, E.A., Birch, J.R, Racher, A.J., Marshall, C.T., James, D.C. (2004) Analyse protéomique comparative des lignées cellulaires de myélome murin GS NS0 avec un taux de production d'anticorps monoclonal recombinant variable. *Biotechnologie et bioingénierie*, 88 (4) : 474-488.

Sökmen, A. (2001). Antiviral and cytotoxic activities of extracts from the cell cultures and respective parts of some Turkish medicinal plants. *Turk J Biol*, 25 : 343–50.

Références bibliographiques

Sohn H.Y., Son K., Kown C., Kown G., Kang S. (2004). Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants *Morus albo* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* L Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora Koreensis* Nakai. *Phytomedicine*. 11 : 666-672.

Sutton, D.A., Fothergill, A.W., & Rinaldi, M.G. Guide to clinically significant fungi. Baltimore, Maryland, USA: Mitchell C. W. William & Wilkins, 1998.

Swain, S.D., Rohn, T.T., Quinn, M.T. (2002). Neutrophil priming in host defense: role of oxidants as priming agents. *Antioxid Redox Signal*, 4 : 69–83.

Switzer, R.C., Merrill, C.R., Shifrin, S. (1979.) Une coloration à l'argent très sensible pour la détection de protéines et de peptides dans des gels de polyacrylamide. *Analytical Biochemistry*, 98 (1) : 231-23.

-T-

Tabarki, S., Aouadhi, C., Mechergui, K., Hammi, K.M., Ksouri, R., Raies, A., Toumi, L. (2017). Comparison of Phytochemical Composition and Biological Activities of *Rubus ulmifolius* Extracts Originating from Four Regions of Tunisia. *Chemistry & biodiversity*, 14.

Talaro-Park, K. (2008). Foundations in Microbiology, *Sixth Edition*. New York, McGraw-Hill Companies, Incorporated.

Talibi, I., Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Msanda, F., Saadi, B., and Ait Ben Aoumar, A. (2012). Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop Prot*, 35 : 41–46.

Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3) : 1089-1099.

Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen, B. G., Mathé, G. (2002). Poly phenol : do they play a role in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother*, 56 : 200-207

Tapparel, C., Sobo, K., Constant, S., Huang, S., Ban Belle, S., & Kaiser, L. (2013). Growth and characterization of different human rhinovirus C types in three-dimensional human airway epithelia reconstituted in vitro. *Virology*, 446(1-2) : 1–8.

Toilettes, d'Evans. (2009) La pharmacognosie de Trease et Evans. *Elsevier Health Sciences* Royaume-Unis

Triggiani, D., Ceccarelli, D., Cusi, M.G., and Paffetti, A. (2012). L'extrait de feuille de *Rubus ulmifolius* inhibe Prolifération des cellules de myélocytome murin. *Science et biotechnologies des plantes médicinales et aromatiques*, 37-41.

Tubaro, A., Dri, P., Delbello, G., Zilli, C., & Loggia, R. D. (1986). The croton oil ear test revisited. *Agents and Actions*, 17(3) : 347-349.

Tzouwara-Karayanni, S.M., Philianos, S.M. (1981). Chemical constituents of *Rubus Ulmifolius* Schott. *Quarterly Journal of Crude Drug Research*, 19 : 127–130.

-V-

Vadivelan, R., Bhadra, S., Ravi, A., Shanish, A., Elango, K., Suresh, B. (2009). Evaluation of anti-inflammatory and membrane stabilizing property of ethanol root extract of *Rubus ellipticus* Smith in Albino rats. *J Nat Rem*, 9(1): 74–8.

Références bibliographiques

Valiente, S. (1978). Diabète Como Problema Nutricional Collectif. Apartado Docente No 111. *INTA*.

Valenzuela-Barra, G., Castro, C., Figueroa, C., Barriga, A., Silva, X., de Las Heras, B., ... & Delporte, C. (2015). Anti-inflammatory activity and phenolic profile of propolis from two locations in Región Metropolitana de Santiago, Chile. *Journal of ethnopharmacology*, 168 : 37-44.

Vandal, J., Léo, G., Leduc, G., Garry, F., Mamdouh, A. (2016) Activité antimicrobienne de produits naturels originaires du Nord de l'Ontario. Département de Biologie Université Laurentienne.

Veeraraghavan, P. (2003). Consultant expert, CPCSEA. *Ligne directrice OCDE*, 420

Vogel, H. G. (Ed.). (2002). *Drug discovery and evaluation : pharmacological assays*. Springer Science & Business Media.

Volak, J., Stodola, J. (1984). Plantes médicinales. *Grund Paris*, 318.

-W-

Wehrlen, L. (1985). La ronce (*Rubus fruticosus* L. agg.) en forêt. *Revue forestière française*, 37(4) : 288-304.

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

Winyard, P. G., Blake, D. R., & Evans, C. H. (2000). Free radicals and inflammation. *Springer Science & Business Media*, 3 : 3-15.

-Y-

Yang, J. W., Choi, I. S. (2017). Comparison of the phenolic composition and antioxidant activity of Korean black raspberry, Bokbunja, (*Rubus coreanus* Miquel) with those of six other berries. *CyTA - Journal of Food*, 15(1) : 110-117.

-Z-

Zahra, A., Kadir, F., Mahmood, A., Suzy, S., Sabri, S., Latif, I., Ketuly, K. (2011). Acute toxicity study and woundhealing potential of *Gynuraprocumbens* leaf extract in rats. *J Med Plants Res*, 5(12), 2551-8.

Zhang Y, Zhang Z, Yang Y, Zu X, Guan D, Guan Y. (2011). Diuretic activity of *Rubus idaeus* L (Rosaceae) in rats. *Trop J Pharm Res*, 10(3) : 243-248.

Zhou, M., Wang, H., Kou, J., & Yu, B. (2008). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aquilariasinensis* (Lour) Gilg. Leaves extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(2), 345-350.

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

Site 1 : <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-57940-description>

Site 2 : <https://monteriza.com/flora-de-la-ribera-baja-del-ebro/r/familia-rosaceae/>

Annexes

Article 1

Article 2

Article 3

Article 4

Résumé

De nos jours, l'utilisation de plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

L'objectif de notre travail s'est porté sur l'étude des composants bioactifs et l'évaluation de leurs activités biologiques et propriétés thérapeutiques des extraits des feuilles de *Rubus ulmifolius* S. en analysant 4 articles scientifiques qui traitent cette même thématique.

Rubus ulmifolius Schott ou la mûre sauvage appartient à la famille des Rosacées : c'est une plante médicinale traditionnellement utilisée pour ses propriétés bénéfiques.

Dans le premier article, le criblage phytochimique des feuilles de *R. ulmifolius* a révélé la présence de métabolites secondaires. Le potentiel antioxydant de l'extrait méthanolique brut et de l'extrait brut riche en flavonoïdes des parties aériennes de *R. ulmifolius* a été déterminé par le pourcentage de piégeage du radical libre DDPH montrant une inhibition de $(74,2 \pm 0,324 \%$ et $83,16 \pm 0,091\%$ respectivement) comparable à celle de l'acide ascorbique qui était de $87,26 \pm 0,128 \%$. De même les deux extraits ont montrés une activité antipyrétique car après leurs administrations la température corporelle des rats a diminué de 74%. Le deuxième article a révélé par la carte protéomique des cellules de myélome murin P3X traités avec une concentration de $30\mu\text{l/l}$ d'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* des modifications significatives des cellules cancéreuses qui ont concluent une activité antiproliférative.

Dans le troisième article, l'extrait de *R. ulmifolius* a montré une activité anti-inflammatoire significative comparée à l'efficacité du médicament standard (diclofénac).

Enfin, dans 4^{ème} article une inhibition bactérienne a été observée pour une concentration d'extrait des feuilles de *R. ulmifolius* supérieur à 50%. Les résultats expérimentaux de l'activité de l'extrait obtenus par différentes méthodes d'extraction contre la bactérie cariopathogène *S. mutants* ont montré que l'extrait méthanolique a représenté le meilleur résultat avec une CMI antibactérienne de 6,25%, cela indique une activité antimicrobienne.

Mots clé : *Rubus ulmifolius*, composés phénoliques, activité antioxydante et antibactérienne, activité antipyrétique, activité anti-inflammatoire, activité antiproliférative.

Abstract :

Nowadays, the use of medicinal plants in herbal medicine has received great interest in biomedical research. This renewed interest comes from the one hand from the fact that medicinal plants represent an inexhaustible source of natural bioactive substances and compounds and on the other hand from the need to research better medication through a gentler therapy without side effects.

The objective of our work focused on the study of the bioactive components and the evaluation of their biological activities and therapeutic properties of the extracts of the leaves of *Rubus ulmifolius* by analyzing 4 scientific articles which deal with this same theme.

Rubus ulmifolius Schott or wild blackberry belongs to the Rosaceae family: it is a medicinal plant traditionally used for its beneficial properties.

In the first article, phytochemical screening of *R. ulmifolius* leaves revealed the presence of secondary metabolites. The antioxidant potential of the crude methanolic extract and the crude flavonoid-rich extract of the aerial parts of *R. ulmifolius* was determined by the percentage of scavenging of the free radical DDPH showing an inhibition of $(74.2 \pm 0.324\%$ and $83.16 \pm 0.091\%$ respectively) comparable to that of ascorbic acid which was $87.26 \pm 0.128\%$. Similarly, the two extracts showed antipyretic activity because after their administration the body temperature of the rats decreased by 59%. The second article revealed, by means of the proteomic map of P3X murine myeloma cell treated with a concentration of $30 \mu\text{l/l}$ of extract from the leaves of *R. ulmifolius*, significant modifications of the cancerous cells, hence an antiproliferative activity.

In the third article, the extract of *R. ulmifolius* showed significant anti-inflammatory activity compared to the efficacy of the standard drug (diclofenac).

Finally, in the last article, bacterial inhibition was observed for a concentration of *R. ulmifolius* leaf extract of less than 50%. The experimental results of the activity of the extract obtained by different extraction methods against the bacterium cariopathogenesis *S. mutants* showed that the methanolic extract represented the best result with an antibacterial MIC of 6.25%, this indicates antimicrobial activity.

Key words: *Rubus ulmifolius*, phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activity, antipyretic activity, anti-inflammatory activity, antiproliferative activity.

ملخص:

في الوقت الحاضر، حظي استخدام النباتات الطبية في طب الأعشاب باهتمام كبير في الأبحاث الطبية الحيوية. يأتي هذا الاهتمام المتجدد من ناحية من حقيقة أن النباتات الطبية تمثل مصدرًا لا ينضب من المواد والمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيًا ومن ناحية أخرى من الحاجة إلى البحث عن دواء أفضل من خلال علاج الأطف دون آثار جانبية.

ركز هدف عملنا على دراسة المكونات النشطة بيولوجيًا وتقييم أنشطتها البيولوجية وخصائصها العلاجية لمستخلصات أوراق *Rubus ulmifolius* من خلال تحليل 4 مقالات علمية تتناول نفس الموضوع.

ينتمي *Rubus ulmifolius* أو العليق البري إلى عائلة Rosaceae وهو نبات طبي يستخدم تقليديًا لخصائصه المفيدة.

في المقال الأول، كشف الفحص الكيميائي النباتي لأوراق *R. ulmifolius* عن وجود مستقيبات ثانوية. تم تحديد إمكانات مضادات الأكسدة لمستخلص الميثانوليك الخام والمستخلص الخام الغني بالفلافونويد للأجزاء الجوية من *R. ulmifolius* من خلال النسبة المئوية للتنظيف من DDPH الجذري الحر الذي يظهر تثبيطًا قدره $(74.2 \pm 0.324\%$ و $83.16 \pm 0.091\%$ على التوالي) مقارنة مع تلك الموجودة في وبالمثل، أظهر المستخلصان نشاطًا مضادًا للحرارة لأنه بعد إعطائهما انخفضت درجة حرارة الجسم للفئران بنسبة 59%. كشفت المقالة الثانية، عن طريق الخريطة البروتينية لخلايا الورم النخاعي الفؤادي P3X المعالجة بتركيز $30 \mu\text{l/l}$ من المستخلص من أوراق *R. ulmifolius*، عن تعديلات كبيرة في الخلايا السرطانية، ومن ثم نشاط مضاد للتكاثر.

في المقالة الثالثة، أظهر مستخلص *R. ulmifolius* نشاطًا كبيرًا مضادًا للالتهابات مقارنة بفعالية الدواء القياسي (diclofenac).

أخيرًا، في المقالة الأخيرة، لوحظ تثبيط بكتيري لتركيز مستخلص أوراق *R. ulmifolius* بنسبة أقل من 50%. أظهرت النتائج التجريبية لنشاط المستخلص الذي تم الحصول عليه بطرق استخراج مختلفة ضد البكتيريا المسببة للأمراض الكرونية *S. mutants* من مستخلص الميثانوليك يمثل أفضل نتيجة مع MIC مضاد للبكتيريا بنسبة 6.25%، وهذا يشير إلى النشاط المضاد للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: *Rubus ulmifolius* المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا، النشاط المضاد للحرارة، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للتكاثر.