



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi Bordj Bou Arréridj
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la
Terre et de l'Univers
Département des Sciences Biologiques
Laboratoire Caractérisation et Valorisation des Ressources Naturelles



Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat
Domaine S.N.V.
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

INTITULE

**Séparation, Identification Et Évaluation Du Potentiel
Biologique Des Métabolites Secondaires Des Plantes
Médicinales Algériennes : *Scabiosa semipapposa*
(Caprifoliaceae) et *Tuberaria guttata* (Cistaceae).**

Présentée par : Samia BENDAMENE

Soutenu le 9/12/2021 Devant le Jury :

Président	M. Abdelouaheb BENTABET	Professeur	Université de Bordj Bou Arréridj
Directeur de thèse	Mme. Naima BOUTAGHANE	MCA	Université des frères Mentouri Constantine 1
Co-directeur de thèse	M. Yuva BELLIK	MCA	Université de Bordj Bou Arréridj
Examineur	M. Abderrahmane BENSEGUENI	Professeur	Université des frères Mentouri Constantine 1
Examineur	Mme. Zahia KABOUCHE	Professeur	Université des frères Mentouri Constantine 1
Examineur	M. Noureddine TOUATI	MCA	Université de Bordj Bou Arréridj

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Au premier lieu, je remercie dieu de m'avoir donné le pouvoir, la patience et le courage pour réaliser ce présent travail.

*Cette thèse de doctorat a été réalisée sous la direction de Madame **Naima BOUTAGHANE**, Maitre de conférences A à l'université des Frères Mentouri Constantine 1 (Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques, Faculté des Sciences Exactes de l'Université de Constantine 1) et la co-direction de Monsieur **Yuva BELLIK**, Maitre de conférences A à l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimi à Bordj Bou Arréridj (Laboratoire de Caractérisation et Valorisation des Ressources Naturelles), en collaboration avec le groupe Isolement et Structure de l'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR, UMRCNRS 7312), de l'Université de Reims Champagne-Ardenne sous la direction de madame le Professeur **Laurence VOUTQUENNE-NAZABADIOKO**.*

*Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier Madame **Naima BOUTAGHANE** ma directrice de thèse qui, m'a confié ce travail et l'a dirigé avec compétence, rigueur, efficacité, une grande disponibilité et une patience extrême, et de m'avoir accordée une très grande confiance que je me suis efforcée à ne pas décevoir et que j'espère, de tout mon cœur, avoir satisfait. Je tiens à vous exprimer mes sincères reconnaissances pour l'aide et le soutien que vous m'avez apporté pour la réalisation de ce travail et pour la rédaction de notre publication scientifique. Je vous remercie aussi de m'avoir formé en phytochimie et chimie structurale.*

Je n'oublie pas votre engagement, votre gentillesse et votre forte implication au cours de la réalisation de cette thèse.

*J'adresse également mes sincère remerciements à Monsieur **Yuva BELLIK** mon codirecteur de thèse pour sa collaboration. Ses conseils, son aide et sa gentillesse m'ont été d'une grande aide pour l'achèvement de ce travail, qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance et gratitude.*

*J'adresse un grand merci au Professeure **Zahia KABOUCHE**, Directrice du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST) de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire ce qui m'a permis de réaliser les premières étapes de mes travaux de recherche et je la remercie vivement aussi d'avoir accepté de faire partie du Jury de ma thèse de Doctorat, je vous exprime ma profonde gratitude et reconnaissance.*

*Je remercie très chaleureusement Madame Laurence **VOUTQUENNE - NAZABADIOKO**, Professeur à l'ICMR (Reims) pour m'avoir bien accueillie au sein de son équipe de recherche Isolement et Structure, pour sa disponibilité malgré ses occupations, sa contribution à la réussite de ce travail, son soutien, sa patience, sa gentillesse, son respect et son amabilité. Je la remercie vivement aussi pour son aide précieuse pour la réalisation des spectres RMN et l'identification des molécules isolées. Je serais toujours très reconnaissante.*

*J'adresse mes sincères remerciements au Docteur **Abdulmagid ALABDULMAGID**, Maître de conférences A de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, pour son aide, ces conseils, et sa gentillesse.*

*Je remercie Monsieur **Kamel KABOUCHE**, pour l'identification des deux espèces étudiées dans le cadre de cette thèse de Doctorat.*

*Je voudrais remercier aussi Monsieur le Professeur **Abdelouaheb BENTABET**, de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimy de Bordj Bou Arréridj, d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de doctorat, qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de ma respectueuse gratitude*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur le Professeur **Aberahmene BENSEGUENI**, de l'université des Frères Mentouri Constantine 1 qui a aimablement accepté de faire partie du Jury et je le remercie aussi pour ces précieux conseils. Je vous exprime ma profonde gratitude et reconnaissance.*

*Je remercie respectueusement Monsieur **Noureddine TOUATI** Maître de conférences A, de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimy de Bordj Bou Arréridj, pour avoir aimablement accepté d'examiner et de juger ce travail de thèse.*

Je tiens également à remercier mes responsables ; **Laid DEHIMAT**, le doyen de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Constantine 1 et le Professeur **Noureddine KASEM CHAOUCHE**, le chef du département de la biologie appliquée pour m'avoir accordés leurs autorisations pour que je puisse continuer mes études. Je suis très reconnaissante envers ces précieux soutiens.

Je remercie également tous les membres du laboratoire de pharmacognosie de Reims : **Charlotte SAYAGH, Dominique HARAKAT, Benjamin BERTAUX, Agathe MARTINEZ et Nicolas BORIE** qui m'ont accordé toutes les facilités nécessaires pour réaliser ce travail.

Je remercie également Le docteur **Chawki BENSOUICI** responsable du laboratoire de biochimie au centre de recherche en biotechnologie de m'avoir accordé un stage pour réaliser mes activités biologiques de ma thèse, sans oublier aussi de remercier tous les membres du laboratoire.

Je voudrais également remercier mes collègues **Sara BECHKRI, Mohamed Ibrahim BADAoui et Lamia DJEBLIA**. Merci pour les moments agréables partagés, votre disponibilité, votre aide et soutien moral. Je remercie également les docteurs **ElHacen MOKRANI** Maître de conférences B, **Nassim. Lotfi ZEGHBID** Maître de conférences B et **Mohamed Skander DAAS** Maître de conférences B, de l'université des frères Mentouri Constantine 1 pour leurs aides et conseils.

Je remercie aussi la secrétaire **Ilham LETIFI** et la doctorante **Ouahiba ALIANE** de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimy de Bordj Bou Arréridj pour leur aide pendant le dépôt de mon dossier de soutenance.

Enfin, je remercie tous mes amis qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel : **Soulef BENBOUALIA, Hanane AYOUNE, Hanane BOUDERBANE, Sabrina GHEDABNA, Naima GUENEZ, Hiba CHIBANI Rayene OUALBANI, Assma BENSALFIA, Souhir BENSARI, Mohamed HARIECHE, Farid BENOUDINA, Sarah NEDJAR, Sihem BOUSOUF, Assia KARBOUA, Ouarda LAIB, Amina TRIKI.**

Je tiens à remercier toute personne qui de près ou de loin m'a soutenue pour mener à terme ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes chères parents, pour vos précieux conseils et surtout votre
patience, encouragement, soutien, confiance et d'affection pendant
toute la durée de ce travail.*

Un grand merci pour avoir été toujours attentive.

Sans vous, je n'aurais jamais pu aller jusqu'au bout.

*A mes chères sœurs et frères :Fadila ,fouzia, Karima, Ahmed et
Sofiane pour leur aide ,encouragement ,et leur soutien*

*A mes chères nièces Chaima, Maya, Djoumana, Maya et mes
neveux Mohamed tadjeddine, et Taym-kinane*

*A mes tantes Zahia, Zohra, Zebida et mes ancles Said et lakhder
pour leur aide et soutien*

*A mes deux beaux-frères Aziz et Houssine pour leur disponibilité et
l'aide apportée quand j'avais besoin*

*A mes cousines Nadia, Nora et ces enfants, mon cousin Farouk et
sa femme samia pour tous ce que vous m'avez apporté comme aide et
soutien*

*A ma très chère amie Soulef qui n'a jamais cessé de m'écouter
pendant mes moments les plus difficiles*

Liste des figures

Partie I : Analyse bibliographique

- Figure I-1** : Distribution mondiale de la famille des Caprifoliaceae. p4
- Figure I-2** : Dessin explicatif de l'appareil reproducteur de la famille des Caprifoliaceae. p6
- Figure I-3** : Diversité morphologique au sein du genre *Scabiosa*. p8
- Figure I-4** : Les différentes parties de *Scabiosa arvensis* L (Scabieuse des champs). p9
- Figure I-5** : *Scabiosa semipapposa* A : inflorescence (Photo prise pendant la récolte) , B : morphologie générale. p33
- Figure I-6** : Quelques espèces appartenant à la famille des Cistaceae A : p34
Cistus albidus L. B: *Helianthemum apenninum* Mill, C: *Fumana arabica* Spach.
- Figure I-7** : Distribution géographique des Cistaceae. p35
- Figure I-8** : Représentation schématique des différents organes de plantes Cistaceae. p37
- Figure I-9** : Les différentes parties de *Tuberaria lignosa* Samp. p40
- Figure I-10** : Carte géographique de la répartition du genre *Tuberaria* (Dunal) Spach. p41
- Figure I-11** : Association symbiotique entre *Tuberaria* et *Terfezia arenaria* p47
- Figure I-12** : *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau ; A (différents organes), B. p49
- Figure I-13** : Limites approximatives de la distribution mondiale *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau. , (Van Steenis (1925) montre l'aire de répartition nord-africaine s'étendant vers l'est jusqu'à la Tripolitaine.). p50

Partie II : Matériel et méthodes

- Figure II-1** : Un montage de CLV p62
- Figure II-2** : Système Grace® Reveleris® flash chromatographie. p63
- Figure II-3** : CLHP Analytique Ultimate 3000. p64
- Figure II-4** : CLHP semipréparative p65
- Figure II-5** : Chaîne de chromatographie préparative. p66
- Figure II-6** : Système de purification PLC GILSON 2050. p67
- Figure II-7** : Schéma de fractionnement de l'extrait brut des racines de *S.semipapposa* par CLV. p68
- Figure II-8** : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des fractions de CLV de la partie racine de *S.semipapposa*. p69

Figure II-9 : Chromatogramme CLHP analytique de la fraction E .	p70
Figure II-10 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sous fractions E-10, E-11, E-12 .	p70
Figure II-11 : Chromatogrammes CLHP de purification du sou fraction E10-35-36, E10-42-44 .	p71
Figure II-12 : Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction E11-28-39 .	p72
Figure II-13 : Chromatogrammes CLHP de purification des sous fractions E12-12-13, E12-15 et E12-25-27 .	p73
Figure II-14 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sucres isolés	p74
Figure II-15 : Chromatogrammes CLHP de purification de la sous fractions A29-34 et A-36-37 .	p74
Figure II-16 : Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction B-70-80 .	p75
Figure II-17 : Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction C-10-14 .	p75
Figure II-18 : Schéma de fractionnement par CLV de l'extrait brut des parties aériennes de <i>S.semipapposa</i> .	p76
Figure II-19 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des fractions de CLV des parties aériennes de <i>S.semipapposa</i> .	p77
Figure II-20 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sous fractions de la Flash chromatographie de la fraction A .	p77
Figure II-21 : Chromatogramme CLP de purification de la sous fraction A-57-60 et A-61-68 .	p78
Figure II-22 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sous fractions de la Flash chromatographie de la fraction B .	p79
Figure II-23 : Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction B-22 et B-32-35 .	p79
Figure II-24 : Schéma de fractionnement de l'extrait brut des de <i>T. guttata</i> par CLV.	p80
Figure II-25 : Profil CCM en Phase normale des fractions de CLV de <i>T. guttata</i> .	p81

Partie III : Résultats et discussion

Figure III-1 : Schéma de purification de saponines isolées à partir des racines de <i>S.semipapposa</i> .	p89
Figure III-2 : Schéma de purification des phénols, iridoïdes et lignanes isolés à partir des racines de <i>S.semipapposa</i>	p90
Figure III-3 : Structure des saponines isolés de <i>Scabiosa semipapposa</i> groupe (A) (Sp1-Sp8, Sp13-Sp16), groupe (B) (Sp9-Sp12).	p92
Figure III-4 : Structure de saponines isolées de <i>Scabiosa semipapposa</i> série 1 (Sp1, Sp3, Sp6, Sp11-Sp13 nouvelles structures).	p93

Figure III-5 : Structure de saponines isolées de <i>Scabiosa semipapposa</i> série 2 (Sp2, Sp5, Sp7, Sp8, Sp9, Sp10 nouvelles structures).	p94
Figure III-6 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp1.	p95
Figure III-7 : Spectre RMN ¹ H du composé Sp1.	p96
Figure III-8 : Spectre RMN ¹³ C du composé Sp1.	p98
Figure III-9 : Corrélations ³ J _{H-H} observés sur le spectre COESY du composé Sp1.	p99
Figure III-10 : Spectres COSY de la partie génine du composé Sp1.	p100
Figure III-11 : Spectre HSQC du de la partie génine composé Sp1.	p101
Figure III-12 : Spectre HMBC de la partie génine du composé Sp1 (zone des méthyles).	p103
Figure III-13 : Spectre HMBC [15.0-50.0, 2.7-5.5ppm] du composé Sp1.	p104
Figure III-14 : Spectre ROESY de la partie génine du composé Sp1.	p105
Figure III-15 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp1.	p107
Figure III-16 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp1.	p108
Figure III-17 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp1.	p109
Figure III-18 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp1.	p110
Figure III-19 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp1.	p111
Figure III-20 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp1.	p116
Figure III-21 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp2.	p119
Figure III-22 : Spectre RMN ¹ H et ¹³ C du composé Sp2.	p120
Figure III-23 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp2.	p121
Figure III-24 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp2.	p122
Figure III-25 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp2.	p123
Figure III-26 : Spectre HSQC-TOCSY de la zone osidique du composé Sp2.	p124
Figure III-27 : Spectre HSQC _J -modulé de la zone osidique du composé Sp2.	p124
Figure III-28 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp2.	p125
Figure III-29 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp2.	p126
Figure III-30 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp3.	p128
Figure III-31 : Spectre RMN ¹ H et ¹³ C du composé Sp3.	p129
Figure III-32 : Spectre HSQC de la partie anomère du composé Sp3.	p130
Figure III-33 : Spectre TOCSY et COSY du composé Sp3.	p131
Figure III-34 : Spectre HSQC-TOCSY et HSQC de la partie osidique du composé Sp3.	p132
Figure III-35 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp3.	p133
Figure III-36 : Spectre ROESY de la partie osidique du composé Sp3.	p134
Figure III-37 : Spectres de masse HR-ESI-MS des composé Sp4et Sp5.	p136

Figure III-38 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé sp4 .	<i>p137</i>
Figure III-39 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp4 .	<i>p138</i>
Figure III-40 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp4 .	<i>p139</i>
Figure III-41 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp4 .	<i>p139</i>
Figure III-42 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp4 .	<i>p140</i>
Figure III-43 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp4 .	<i>p141</i>
Figure III-44 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp4 .	<i>p142</i>
Figure III-45 : Spectre RMN ^1Het ^{13}C du composé Sp5 .	<i>p143</i>
Figure III-46 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp5 .	<i>p144</i>
Figure III-47 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp5 .	<i>p145</i>
Figure III-48 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp5 .	<i>p145</i>
Figure III-49 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp5 .	<i>p146</i>
Figure III-50 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp5 .	<i>p147</i>
Figure III-51 : Spectres de masse HR-ESI-MS des composés Sp6 et Sp7 .	<i>p150</i>
Figure III-52 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé Sp6 .	<i>p151</i>
Figure III-53 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp6 .	<i>p152</i>
Figure III-54 : Spectre COSY et TOCSY de la zone osidique du composé Sp6 .	<i>p153</i>
Figure III-55 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp6 .	<i>p154</i>
Figure III-56 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp6 .	<i>p155</i>
Figure III-57 : Spectre NOESY de la zone osidique du composé Sp6 .	<i>p156</i>
Figure III-58 : Spectres RMN ^1H du composé Sp7 .	<i>p157</i>
Figure III-59 : Spectres RMN ^{13}C de la zone des anomères du composé Sp7 .	<i>p158</i>
Figure III-60 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp7 .	<i>p158</i>
Figure III-61 : Spectre TOCSY de la zone des sucres du composé Sp7 .	<i>p159</i>
Figure III-62 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp7 .	<i>p160</i>
Figure III-63 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp7 .	<i>p161</i>
Figure III-64 : Spectre NOESY de la zone osidique du composé Sp7 .	<i>p162</i>
Figure III-65 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp8 .	<i>p165</i>
Figure III-66 : Spectre RMN ^1H du composé Sp8 .	<i>p165</i>
Figure III-67 : Spectre RMN ^{13}C de la zone des anomères du composé Sp8 .	<i>p166</i>
Figure III-68 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp8 .	<i>p166</i>
Figure III-69 : Spectre TOCSY de la zone osidique du composé Sp8 .	<i>p167</i>
Figure III-70 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp8 .	<i>p168</i>
Figure III-71 : Spectre HMBC et ROESY de la zone osidique du composé Sp8 .	<i>p169</i>
Figure III-72 : Spectre de masse HR ESIMS du composé Sp13 (en mélange).	<i>p171</i>

Figure III-73 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé Sp13 (en mélange).	<i>p172</i>
Figure III-74 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp13 (en mélange).	<i>p173</i>
Figure III-75 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp13 (en mélange).	<i>p174</i>
Figure III-76 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp13 (en mélange).	<i>p175</i>
Figure III-77 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp13 (en mélange).	<i>p176</i>
Figure III-78 : Spectres de masse HR- ESIMS des composés Sp9 et Sp12 .	<i>p181</i>
Figure III-79 : Spectre RMN ^1H du composé Sp9 par comparaison avec le composé Sp8 .	<i>p182</i>
Figure III-80 : Spectre HSQC du composé Sp9 (partie génine).	<i>p182</i>
Figure III-81 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp9 .	<i>p183</i>
Figure III-82 : Spectre HMBC de la partie génine du composé Sp9 .	<i>p184</i>
Figure III-83 : Spectres de masse HR ESIMS des composés Sp10 et Sp11 .	<i>p188</i>
Figure III-84 : Spectre RMN ^1H du composé Sp10 par comparaison avec le composé Sp7 .	<i>p189</i>
Figure III-85 : Spectre RMN ^1H du composé Sp11 par comparaison avec le composé Sp 6 .	<i>p190</i>
Figure III-86 : Spectre RMN ^1H du composé Sp17 .	<i>p199</i>
Figure III-87 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp17 .	<i>p200</i>
Figure III-88 : Spectre COSY du composé Sp17 .	<i>p201</i>
Figure III-89 : Spectre HSQC du composé Sp17 .	<i>p202</i>
Figure III-90 : Spectre HMBC du composé Sp17 .	<i>p202</i>
Figure III-91 : Spectre RMN ^1H du composé Sp18 .	<i>p204</i>
Figure III-92 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp18 .	<i>p205</i>
Figure III-93 : Spectre COSY du composé Sp18 .	<i>p205</i>
Figure III-94 : Spectre HSQC du composé Sp18 .	<i>p206</i>
Figure III-95 : Spectre HMBC du composé Sp18 .	<i>p207</i>
Figure III-96 : Spectre RMN ^1H du composé Sp19 .	<i>p208</i>
Figure III-97 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp19 .	<i>p209</i>
Figure III-98 : Spectre COSY du composé Sp19 .	<i>p210</i>
Figure III-99 : Spectre HMBC du composé Sp19 .	<i>p210</i>
Figure III-100 : Spectre RMN ^1H du composé Sp20 .	<i>p212</i>
Figure III-101 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp20 .	<i>p213</i>
Figure III-102 : Spectre COSY du composé Sp20 .	<i>p214</i>
Figure III-103 : Spectre HMBC du composé Sp20 .	<i>p215</i>
Figure III-104 : Spectres de masse HR-ESI-MS du composé Sp 21 .	<i>p217</i>

Figure III-105 : Spectre RMN ^1H du composé Sp21 .	<i>p218</i>
Figure III-106 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp21 .	<i>p218</i>
Figure III-107 : Spectre COSY de la zone aromatique du composé Sp21 .	<i>p219</i>
Figure III-108 : Spectre HSQC de la zone aromatique du composé Sp21 .	<i>p220</i>
Figure III-109 : Spectre HMBC de la zone aromatique du composé Sp21 .	<i>p221</i>
Figure III-110 : Spectre HMBC et HSQC des protons méthoxylique du composé Sp21 .	<i>p222</i>
Figure III-111 : Spectre NOESY des protons méthoxyliques du composé Sp21 .	<i>p222</i>
Figure III-112 : Spectre HSQC [3.0-5.0 ppm] du composé Sp21 .	<i>p223</i>
Figure III-113 : Spectre HMBC [3.0-4.9 ppm] du composé Sp21 .	<i>p224</i>
Figure III-114 : Spectre COSY [3.0-5.0 ppm] du composé Sp21 .	<i>p225</i>
Figure III-115 : Spectre HMBC [4.65-4.89 ppm] du composé Sp21 .	<i>p226</i>
Figure III-116 : Spectre NOESY du composé Sp21 .	<i>p227</i>
Figure III-117 : Spectres de masse HR-ESI-MS des composés Sp22 et Sp23 .	<i>p228</i>
Figure III-118 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé Sp22 .	<i>p229</i>
Figure III-119 : Spectre COSY [3.0-4.9 ppm] du composé Sp22 .	<i>p230</i>
Figure III-120 : Spectre HMBC [3.0-7.5 ppm, 140.0-150.0ppm] du composé Sp22 .	<i>p231</i>
Figure III-121 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé Sp23 .	<i>p232</i>
Figure III-122 : Spectre HMBC [3.0-7.5ppm, 145.0-150.0ppm] du composé Sp23 .	<i>p233</i>
Figure III-123 : Spectre RMN ^1H du composé Sp24 .	<i>p235</i>
Figure III-124 : Spectre COSY de la partie aromatique du composé Sp24 .	<i>p235</i>
Figure III-125 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp24 .	<i>p236</i>
Figure III-126 : Spectre HMBC du composé Sp24 .	<i>p237</i>
Figure III-127 : Spectre HSQC du composé Sp24 .	<i>p238</i>
Figure III-128 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé Sp25 .	<i>p239</i>
Figure III-129 : Spectre HSQC du composé Sp25 .	<i>p240</i>
Figure III-130 : Spectre HMBC du composé Sp25 .	<i>p240</i>
Figure III-131 : Spectre RMN ^1H du composé Sp26 .	<i>p242</i>
Figure III-132 : Spectre ^{13}C du composé Sp26 .	<i>p242</i>
Figure III-133 : Spectre HMBC du composé Sp26 .	<i>p243</i>
Figure III-134 : Spectre RMN ^1H du composé Sp27 .	<i>p245</i>
Figure III-135 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp27 .	<i>p246</i>
Figure III-136 : Spectre HMBC [3.0-6.8, 90-160] du composé Sp27 .	<i>p246</i>
Figure III-137 : Spectre COSY du composé Sp27 .	<i>p247</i>
Figure III-138 : Spectre HMBC [3.2-5.1, 63-81] du composé Sp27 .	<i>p248</i>

Figure III-139 : Schéma de purification des parties aériennes de <i>S. semipapposa</i> .	p250
Figure III-140 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp28 .	p250
Figure III-141 : Spectre RMN ¹ H du composé Sp28 .	p251
Figure III-142 : Spectre RMN ¹³ C du composé Sp28 .	p252
Figure III-143 : Spectre HSQC [5.3-8.2, 90.0-150.0 ppm] du composé Sp28 .	p252
Figure III-144 : Spectre HMBC [5.2-8.2, 90.0-148.0 ppm] du composé Sp28 .	p253
Figure III-145 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp28 .	p254
Figure III-146 : Spectre HMBC [4.0-6.3, 14.0-167.0 ppm] du composé Sp28 .	p255
Figure III-147 : Spectre RMN ¹ H du composé Sp29 .	p257
Figure III-148 : Spectre RMN ¹³ C du composé Sp29 .	p257
Figure III-149 : Spectre HMBC du composé Sp29 .	p258
Figure III-150 : Spectre RMN ¹ H du composé Sp30 .	p259
Figure III-151 : Spectre RMN ¹³ C du composé Sp30 .	p259
Figure III-152 : Spectre RMN ¹ H du composé Sp31 .	p261
Figure III-153 : Schéma de purification de l'extrait éthanolique de <i>T. guttata</i> .	p263
Figure III-154 : Spectre RMN ¹ H du composé Tb1 .	p264
Figure III-155 : Spectre RMN ¹ H du composé Tb2 .	p265
Figure III-156 : Spectre HMBC du composé Tb2 .	p266
Figure III-157 : Spectre RMN ¹ H du composé Tb3 .	p268
Figure III-158 : Spectre HMBC du composé Tb3 .	p268
Figure III-159 : Teneurs en composés phénoliques des parties aériennes (A) et des racines (B) de <i>Scabiosa semipapposa</i> .Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p277
Figure III-160 : Teneurs en flavonoïdes totaux des parties aériennes (A) et des racines (B) de <i>Scabiosa semipapposa</i> .Les lettres (a-e) indique une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p278
Figure III-161 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] des extraits des parties aériennes de <i>Sacabiosa semipapposa</i> .	p280
Figure III-162 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] des extraits des racines de <i>Sacabiosa semipapposa</i> .	p281
Figure III-163 : Valeurs des CI ₅₀ des différentes parties testé pour DPPH [•] (aérienne A et Racine B) de <i>S.semipapposa</i> . Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p281
Figure III-164 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} des extraits des parties aériennes de <i>Sacabiosa semipapposa</i> .	p283

Figure III-165 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} des extraits des racines de <i>Sacabiosa semipapposa</i> .	p283
Figure III-166 : Valeurs des CI ₅₀ des différentes parties testé pour ABTS ^{•+} (aérienne A et Racine B) de <i>S.semipapposa</i> . Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p284
Figure III-167 : Capacité réductrice de l'ion cuprique (CUPRAC) des extraits des parties aériennes de <i>S.semipapposa</i>	p286
Figure III-168 : Capacité réductrice de l'ion cuprique (CUPRAC) des extraits des racines de <i>S.semipapposa</i> .	p286
Figure III-169 : Valeurs des CI ₅₀ des différentes parties testé pour CUPRAC (aérienne A et Racine B) de <i>S.semipapposa</i> . Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p287
Figure III-170 : Teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes de <i>Tuberaria guttata</i> .	p288
Figure III-171 : Teneurs en composés flavonoïdes de l'extrait brut et des fractions de <i>Tuberaria guttata</i> .	p289
Figure III-172 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] par les extraits de <i>Tuberaria guttata</i>	p290
Figure III-173 : Valeurs des CI ₅₀ des différents extraits de <i>T.guttata</i> testés pour le DPPH. Les lettres (a-e) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p290
Figure III-174 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} par les extraits de <i>Tuberaria guttata</i> .	p291
Figure III-175 : Valeurs des CI ₅₀ des différents extraits de <i>T.guttata</i> testés pour l'ABTS. Les lettres (a-g) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p292
Figure III-176 : Capacité réductrice de l'ion cuprique(CUPRAC) des différents extraits de <i>T.guttata</i> .	p293
Figure III-177 : Valeurs des CI ₅₀ des différents extraits de <i>T.guttata</i> testés pour le test CUPRAC. Les lettres (a-g) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p293
Figure III-178 : Courbes de pourcentage d'inhibition de l' α -glucosidase des différents extraits et les standards ; quercetine et acarbose.	p295
Figure III-179 : Valeurs des CI ₅₀ des différents extraits de <i>T.guttata</i> testés pour l'activité antiglucosidase. Les lettres (a-d) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).	p295

Liste des tableaux

Partie I : Analyse bibliographique

Tableau I-1 : Position systématique de la famille des Caprifoliaceae d'après APG III.	<i>p7</i>
Tableau I-2 : Triterpènes et stérols isolés du genre <i>Scabiosa</i> .	<i>p13</i>
Tableau I-3 : Structure des saponosides isolés du genre <i>Scabiosa</i> .	<i>p15</i>
Tableau I-4 : Structure des irridoïde isolés du genre <i>Scabiosa</i> .	<i>p21</i>
Tableau I-5 : Structure des flavonoïdes isolés à partir du genre <i>Scabiosa</i> .	<i>p25</i>
Tableau I-6 : Structure de coumarines isolées à partir du genre <i>Scabiosa</i> .	<i>p29</i>
Tableau I-7 : Structure des acides phénoliques et acides gras isolés du genre <i>Scabiosa</i> .	<i>p30</i>
Tableau I-8 : Position de la famille Cistaceae dans la classification systématique évolutive.	<i>p38</i>
Tableau I-9 : Position de la famille Cistaceae selon Guignard 2001.	<i>p38</i>
Tableau I-10 : Position systématique du genre <i>Tuberaria</i> .	<i>p41</i>
Tableau I-11 : Métabolites isolées à partir de l'espèce <i>Tuberaria.lignosa</i> .	<i>p43</i>

Partie II : Matériel et méthodes

Tableau II-1 : Tableau des différents cartouches avec les paramètres adaptés.	<i>p63</i>
Tableau II-2 : Progression de la CLV sur silice greffée C-18 des racines de <i>S. semipapposa</i> .	<i>p69</i>
Tableau II-3 : Chromatographie Flash sur colonne de silice normale de la fraction E.	<i>p70</i>
Tableau II-4 : Progression de la CLV sur silice greffée RP-C18 des parties aériennes de <i>S.semipapposa</i> .	<i>p76</i>
Tableau II-5 : Progression de la CLV sur silice greffée RP-C18 des parties aériennes de <i>T.guttata</i> .	<i>p80</i>

Partie III : Résultats et discussion

Tableau III-1 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé Sp1 dans CD₃OD .	<i>p118</i>
Tableau III-2 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) de la partie osidique du composé Sp2 dans CD₃OD .	<i>p127</i>
Tableau III-3 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) de la partie osidique du composé Sp3 dans CD₃OD .	<i>p135</i>
Tableau III-4 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	<i>p149</i>

(150 MHz) de la partie osidique des composés Sp4 et Sp5 dans CD₃OD .	
Tableau III-5 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p164
(150 MHz) de la partie osidique des composés Sp6 et Sp7 dans CD₃OD .	
Tableau III-6 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p178
(150 MHz) de la partie osidique des composés Sp08 et Sp13 dans CD₃OD .	
Tableau III-7 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p179
(150 MHz) de la partie génine des composés (Sp2 –Sp5) dans CD₃OD .	
Tableau III-8 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p180
(150 MHz) de la partie génine des composés (Sp6–Sp8 et Sp13) dans CD₃OD .	
Tableau III-9 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p187
(150 MHz) de la partie osidique des composés Sp9 et Sp12 dans CD₃OD .	
Tableau III-10 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p192
(150 MHz) de la partie osidique des composés Sp10 et Sp11 dans CD₃OD .	
Tableau III-11 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p193
(150 MHz) de la partie génine des composés (Sp09- Sp12) dans CD₃OD .	
Tableau III-12 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p195
(150 MHz) de la partie génine des composés (Sp14-Sp16) dans CD₃OD .	
Tableau III-13 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p196
(150 MHz) de la partie osidique des composés (Sp14- Sp16) dans CD₃OD .	
Tableau III-14 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p203
(150 MHz) du composé Sp17 dans CD₃OD .	
Tableau III-15 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p211
(150 MHz) des composés Sp18, Sp19 dans CD₃OD .	
Tableau III-16 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p216
(150 MHz) du composé Sp20 dans CD₃OD .	
Tableau III-17 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p234
(150 MHz) des composés Sp21-Sp 23 dans CD₃OD .	
Tableau III-18 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p241
(150 MHz) des composés Sp24, Sp 25 dans CD₃OD .	
Tableau III-19 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p244
(150 MHz) des composés Sp26 dans CD₃OD .	
Tableau III-20 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p249
(150 MHz) des composés Sp27 dans CD₃OD .	
Tableau III-21 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C	p256
(150 MHz) du composé Sp28 dans CD₃OD .	

Tableau III-22 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé Sp29 dans DMSO-d6 et Sp30 dans CD₃OD .	p260
Tableau III-23 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé Sp31 dans CD₃OD .	p262
Tableau III-24 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) des composés Tb 2 dans CD₃OD .	p267
Tableau III-25 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé Tb3 dans CD₃OD .	p269
Tableau III-26 : Teneurs en phénols et flavonoïdes des extraits de <i>Scabiosa semipapposa</i> .	p316
Tableau III-27 : Résultats des activités anti-radicalaire de <i>Scabiosa semipapposa</i> .	p316
Tableau III-28 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes et résultats des activités anti-radicalaire de <i>T.guttata</i> .	p317

Liste des abréviations

ATCC:	American type culture collection.
CI 50 :	Concentration Inhibitrice à 50%.
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice.
COX :	Cyclo-Oxygénase
DH 100 :	Hemolytic Dose 100%
DH 50 :	Hemolytic Dose 50%
HeLa:	Uterine cervix cancer.
HT-1080:	Human fibrosarcoma.
KB :	Human oral epidermoid carcinoma
MMP-2 :	Protéine métalloprotéase matricielle 2
MMP-9 :	Protéine métalloprotéase matricielle 9
TIMP-2 :	Inhibiteurs tissulaires métallo protéases-2
TNF α :	Tumor Necrosis Factor-alpha, Facteur de nécrose tumorale alpha

Solvants et réactifs

ABTS :	l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ACN :	Acetonitrile
AcOEt :	Acétate d'éthyle
Al(NO ₃) ₃ :	Nitrate d'aluminium
BHA :	Hydroxyanisole butylé
BHT :	Hydroxytoluène butylé (2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol)
CD ₃ OD :	Méthanol deutere
CH ₃ Cl ₂ :	Dichlorométhane
CH ₃ CO ₂ K :	Acétate de potassium
CHCl ₃ :	Chloroforme
CUPRAC :	Pouvoir réducteur du cuivre
DMSO-d ₆ :	Diméthylsulfoxyde deutéré
DPPH :	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
H ₂ SO ₄ :	Acide sulfurique
MeOH:	Méthanol
Na ₂ CO ₃ :	Carbonate de sodium
PR-C-18 :	Silice greffée
SiO ₂ :	Gel de silice normale
TFA :	Acide trifluoroacétique

Technique chromatographique

CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CLHP :	Chromatographie Liquide Haute Performance
CLV :	Chromatographie liquide sous vide
CLP :	Chromatographie liquide préparative

Détermination structurale

[α]D :	Pouvoir rotatoire
μ M :	Micromolaire
Ara:	α -L-arabinose
COSY:	COrrrelated SpectroscopY
Gal :	β -galactose
Glc A :	β -glucuronique acide
Glc:	β -glucose
Rha :	β -rhamnose
d :	doublet
dd :	doublet de doublet
ddd :	doublet de doublet de doublet
dl :	doublet large
dm :	doublet de multiplet
dt :	doublet de triplet
HMBC:	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HR-ESI-MS:	High Resolution ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry
HSQC :	Heteronuclear Single Quantum Connectivity
J (Hz) :	Constante de couplage en Hertz
<i>m</i> :	multiplet
<i>m/z</i> :	masse/charge d'un ion
NOE	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ¹³ C :	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone
RMN ¹ H :	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
rOe:	Rotation Overhauser effect
ROESY:	ROtating Overhauser Effect SpectroscopY
S :	Singulet
t :	triplet
td :	triplet de doublet
TOCSY :	TOal Correlation SpectroscopY
<i>t_R</i> :	temps de rétention
Xyl :	β -xylose
δ_C :	Déplacement chimique du carbone en ppm
δ_H :	Déplacement chimique du proton en ppm

Activités biologiques

CI ₅₀ :	Concentration Inhibitrice à 50%
μ g/ml :	Concentration en Microgramme par millilitre
TFC :	Teneur totale en flavonoïdes
TPC :	Teneur totale en phénols

Unités des grandeurs physiques et chimiques

°C :	Degré Celsius
EAG:	Equivalent de l'acide gallique
EQ :	Equivalent de la quercétine
Hz :	Hertz
J (Hz) :	Constante de couplage exprimée en Hertz
min :	minute
ppm :	Parties par million
uma :	Unité de masse atomique

Table des matières

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ix
Liste des abréviations	xii
Introduction générale.....	1
Références	3

PARTIE I : Synthèse bibliographique

CHAPITRE 1 : Présentation du genre *Scabiosa*

I.1.1 L'ordre des Dipsacales	4
I.1.2 Famille des Caprifoliaceae	4
I.1.2.1 Généralités	4
I.1.2.2 Description botanique	4
I.1.2.3 Position systématique	6
I.1.3 Présentation du genre <i>Scabiosa</i> .L (scabieuses)	7
I.1.3.1 Description botanique	7
I.1.3.2 Utilisation en médecine traditionnelle	10
I.1.3.3 Quelques Activités biologiques du genre <i>Scabiosa</i>	11
I.1.3.4 Les Métabolites isolés du genre <i>Scabiosa</i>	12
I-1.4 L'espèce <i>Scabiosa semipapposa</i> Salzm	32
I.1.4.1 Position systématique	32
I.1.4.2 Distribution géographique	33
I.1.4.3 Description botanique	33
I.1.4.4 Utilisation en médecine traditionnelle	33

CHAPITRE 2 : Présentation du genre *Tuberaria*

I.2.1 L'ordre des Malvales	34
I.2.2 Famille des Cistaceae	34
I.2.2.1 Généralités	34
I.2.2.2 Description botanique	36
I.2.2.3 Position systématique	37
I.2.3 Présentation du genre <i>Tuberaria</i> (Dunal) Spach	38
I.2.3.1 Description botanique	39
I.2.3.2 Répartition géographique	40
I.2.3.3 Position systématique	41

I.2.3.4 Etudes chimiques antérieures du genre <i>Tuberaria</i>	42
I.2.3.5 Utilisation en médecine traditionnelle	46
I-2.3.6 Quelques activités biologiques du genre <i>Tuberaria</i>	46
I.2.3.7 Importance écologique du genre <i>Tuberaria</i>	46
I.2.3 L'espèce <i>Tuberaria guttata</i> (L.) Fourreau	48
I.2.3.1 Position systématique	48
I.2.3.2 Description botanique	48
I.2.3.3 Distribution géographique	49
I.2.3.4 Utilisation en médecine traditionnelle	50
Références	51

PARTIE II : Matériel et Méthodes

II.1 Matériel végétal	61
II.2 Méthodes chromatographiques	61
II.2.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)	61
II.2.2 La chromatographie liquide sous vide (CLV)	62
II.2.3 La chromatographie sur colonne ouverte (CC)	62
II.2.4 La chromatographie flash (CF)	63
II.2.5 Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)	64
II.2.5.1 CLHP analytique	64
II.2.5.2 CLHP semi-préparative	64
II.2.5.3 CLHP préparative	65
II.2.5.4 CLHP préparative (Gilson PLC 2050)	66
II.3 Méthodes physico-chimique	67
II.3.1 Pouvoir rotatoire	67
II.3.2 Spectrométrie de masse	67
II.3.3 Spectrométrie de résonance magnétique (RMN)	68
II.4 Chimie extractive des racines de <i>Scabiosa semipapposa</i>	68
II.4.1 Extraction et fractionnement de l'extrait brut	68
II.4.2 Purification	69
II.4.2.1 Purification de la fraction E	70
II.4.2.2 Hydrolyse acide de la fraction E	73
II.4.2.3 Purification de la fraction A	74
II.4.2.4 Purification de la fraction B	75

II.4.2.5 Purification de la fraction C	75
II.4.2.6 Purification de la fraction D	76
II.5 Chimie extractive des parties aériennes de <i>Scabiosa semipapposa</i>	76
II.5.1 Extraction et fractionnement de l'extrait Brut	76
II.5.2 Purification	77
II.5.2.1 Purification de la fraction A	77
II.5.2.2 Purification de la fraction B	78
II.6 Chimie extractive de l'espece <i>Tuberaria guttata</i> (L.) Fourreau	79
II.6.1 Extraction et fractionnement de l'extrait brut	79
II.6.2 Purification	80
II.6.2.1 Purification de la fraction A	81
II.6.2.2 Purification de la fraction B	81
II.7 Dosage et évaluation des activités biologiques	81
II.7.1 Dosage des polyphénols et flavonoïdes	81
II.7.2 Evaluation de l'activité antioxydante	82
II.7.2.1 Test de piégeage du radical DPPH'	82
II.7.2.2 Test de piégeage de radicaux ABTS ⁺	83
II.7.2.3 Test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)	84
II.7.3 Inhibition de l'activité enzymatique de l'alpha-glucosidase	84
Références	86

PARTIE III- Résultats et discussion

CHAPITRE 1 : Détermination structurale des composés isolés de *Scabiosa semipapposa*

III.1.1 Elucidation structurale des saponines	91
III.1.1.1 Détermination structurale du composé Sp1	95
III.1.1.2 Détermination structurale du composé Sp2	119
III.1.1.3 Détermination structurale du composé Sp3	128
III.1.1.4 Détermination structurale des composés Sp4 et SP5	136
III.1.1.5 Détermination structurale des composés Sp6 et SP7	150
III.1.1.6 Détermination structurale du composé Sp8	165
III.1.1.7 Détermination structurale du mélange Sp13(en mélange)	171
III.1.1.8 Détermination structurale des composés Sp9, Sp12.....	181
III.1.1.9 Détermination structurale des composés Sp10, Sp11.....	188

III.1.1.10 Détermination structurale des composés Sp14-Sp16	194
III.1.2 Elucidation structurale des iridoïdes	199
III.1.2.1 Détermination structurale des composées Sp17	199
III.1.2.2 Détermination structurale du composé Sp18 et Sp19	204
III.1.2.3 Détermination structurale du composé Sp20	212
III.1.3 Elucidation structurale des composés phénoliques	217
III.1.3.1 Détermination structurale des composés Sp21-Sp23	217
III.1.3.2 Détermination structurale des composés Sp24 et Sp25	235
III.1.3.3 Détermination structurale du composé Sp26	242
III.1.3.4 Détermination structurale du composé Sp27	245
III.1.4 Elucidation structurale des flavonoïdes	250
III.1.4.1 Détermination structurale du composé Sp28	250
III.1.4.2 Détermination structurale des composés Sp29 et Sp30	257
III.1.4.3 Détermination structurale du composé Sp31	261
CHAPITRE 2 : Détermination structurale des composés isolés de <i>Tuberaria guttata</i>	
III.2.1 Détermination structurale du composé Tb1	264
III.2.2 Détermination structurale du composé Tb2	264
III.2.3 Détermination structurale du composé Tb3	267
Références	270

CHAPITRE 3 : Dosages et évaluation des activités biologiques

III.3.1 Résultats du dosage et des activités biologiques	277
III.3.1.1 Teneur en phénols totaux de <i>Scabiosa semipapposa</i>	277
III.3.1.2 Teneur en flavonoïdes totaux de <i>Scabiosa semipapposa</i>	278
III.3.1.3 Potentiel antioxydant de <i>Sacabiosa semipapposa</i>	279
III.3.1.3.1 Capacité scavenger du radical DPPH [•]	279
III.3.1.3.2 Capacité scavenger du radical ABTS ^{•+}	283
III.3.1.3.3 Capacité de réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)	285
III.3.1.4 Teneur en phénols totaux de <i>Tuberaria guttata</i>	288
III.3.1.5 Teneurs en flavonoïdes totaux de <i>Tuberaria guttata</i>	289
III.3.1.6 Pouvoir antioxydant de <i>Tuberaria guttata</i>	289
III.3.1.6.1 Capacité scavenger du radical DPPH [•]	289
III.3.1.6.2 Capacité scavenger du radical ABTS ^{•+}	291
III.3.1.6.3 Capacité de réduction de l'ion cuprique (CUPRAC).....	292
III.3.1.7 Inhibition de l'alpha glucosidase	294

Références	297
Conclusion générale	301
Annexe 1 : Caractéristiques des composés isolés	303
Annexe 2.....	316
Publication scientifique	318

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La Nature représente en effet une source inépuisable de nouvelles structures, grâce à une précieuse biodiversité végétale, animale et microbienne. Les produits naturels d'origine végétale ont toujours été utilisés par l'Homme et représentaient la majorité de la pharmacopée jusqu'à l'avènement de la synthèse organique, au début du XXe siècle. Mais l'apparition de la robotique, de la chimie combinatoire et du criblage haut-débit a largement réduit l'utilisation des produits naturels.

Cependant, selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S), malgré la prédominance de la synthèse organique, 80 % de la population mondiale a encore recours à des traitements à base de plantes, faisant partie de ce qu'on appelle "médecine traditionnelle" [Pousset., 1989 ; Hotettmann., 1997]. Les connaissances associées à cette dernière ont encouragé d'autres recherches sur les plantes médicinales comme source de médicaments potentiels. Elles ont conduit à l'isolement de nombreux produits naturels qui sont devenus des produits pharmaceutiques bien connus.

Nous citerons à titre d'exemples, le taxol (du genre *Taxus*), médicament reconnu mondialement pour son action anticancéreuse hautement efficace. La morphine, substance naturelle isolée du latex d'une papaveraceae appelée *Papaver somniferum* constitue également un parfait exemple, la quinine (dérivé du genre *Cinchona*) employée contre la malaria, la digitoxine (du genre *Digitalis*) utilisée contre les maladies cardiovasculaires, l'éphédrine (du genre *Ephedra*) que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes, Les produits naturels représentent une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques.

Par sa situation géographique, de son climat diversifié (méditerranéen, semi-aride et saharien) et la nature de ses sols, l'Algérie possède une flore particulièrement riche et variée. La région méditerranéenne est caractérisée par une diversité biologique exceptionnelle ainsi qu'une richesse floristique estimée à 25000 espèces des plantes vasculaires, avec plus de 300 taxons d'espèces endémiques nationales pour le nord de l'Algérie (à l'exclusion du Sahara) [Miara et al., 2018] ; ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Mais plusieurs sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale [Gelfand et al., 1985].

La conception et la réalisation de ce travail de thèse de doctorat en Biochimie s'inscrit dans le cadre du programme de recherche de Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST), destiné à la valorisation de la flore du Nord algérien, par la recherche de nouveaux composés ou principes actifs à débouchés thérapeutiques.

Pour cela, deux espèces végétales *Scabiosa semipapposa* Salzm Ex D.C (Caprifoliaceae) et *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau (Cistaceae) m'ont été confiées en vue d'une investigation chimique et biologique.

Les diverses investigations phytochimiques menées sur la famille des Caprifoliaceae et plus particulièrement sur le genre *Sacabiosa*, ont montré une richesse remarquable en métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique. En effet et comme il sera rapporté ultérieurement, les études chimiques réalisées sur le genre ont mis en évidence la présence de saponosides [Lehbili et al., 2018 a] , iridoïdes [Wang et al., 2015] , et flavonoides [Al-Qudah et al., 2017].

Les plantes appartenant à la famille Cistaceae qui, à l'instar de la flore méditerranéenne constituent une ressource végétale qui n'a cessé, depuis des siècles, d'être utilisée par les populations autochtones pour leurs propriétés médicinales. Les espèces de cette famille sont très riches en métabolites secondaires à savoir les flavonoïdes [Barros et al., 2013] , les composés polyphénoliques, les diterpènes [Kalpoutzakis et al., 2003] et les huiles essentielles [Javidnia et al., 2007]

La recherche bibliographique exhaustive effectuée sur les deux espèces *Scabiosa semipapposa* et *Tuberaria guttata* et qui a donné une motivation supplémentaire pour la concrétisation de ce travail, a montré qu'elles n'ont pas fait l'objet d'aucune étude phytochimique ni biologique.

Notre travail de thèse se divise en trois grandes parties :

-La première partie est consacrée à un rappel sur les caractéristiques botaniques des deux plantes étudiées, leur répartition géographique, usages traditionnels et à une étude bibliographique sur les genres auxquels elles appartiennent avec une synthèse des principaux résultats phytochimiques antérieurs relatifs aux genres.

-La deuxième partie évoquera les détails expérimentaux des études phytochimique et biologique des deux plantes *S.semipapposa* et *T.guttata* ensuite une description des appareils et méthodes utilisés ainsi que les protocoles suivis pour l'évaluation de l'activité antioxydante et anti α glucosidase des extraits obtenus.

-La troisième partie sera dédiée à la détermination structurale des produits isolés à partir des deux espèces à l'aide des différentes méthodes spectroscopiques RMN 1D et 2D, la spectrométrie de masse à haute résolution (HR-ESI-MS), la mesure des pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$ et par la comparaison avec les données de la littérature. Ainsi au résultat obtenus des activités antioxydantes, et anti α glucosidase.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale.

-A-

Al-Qudah, M.A., Ootom, N.K., Al-Jaber H.I., Saleh, A.M., Abu Zarga, M.H., Afifi, F.U., Abu Orabi, S.T. (2017). New flavonol glycoside from *Scabiosa proliferata* L. aerial parts with invitro antioxidant and cytotoxic activities. *Natural Product Research*. 31(24), 2865-2874.

-B-

Barros, L., Duenas, M., Alves, C.T., Silva, S., Henriques, M., Buelga, C.S., Ferreira, I. C. F. R., (2013). Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts. *Industrial Crops and Products*. 41, 41-45.

-K-

Kalpoutzakis, E., Aliannis, N., Skaltsounis, A.L., Mitakou, S. (2003). *Cis-clerodane* type diterpenes from *Cistus monspeliensis*. *Journal of Natural Products*. 66,(2). 316-319.

-G-

Gelfand, M., Mavi, S., Drummond, R.B., Ndemera, B., (1985). The Traditional Medical Practitioner in Zimbabwe. *Mambo Press, Gweru*. pp 191-192, pp 268-269 et p 304.

-H-

Hotettmann, K. (1997). Tout savoir sur le pouvoir des plantes source de médicaments, Suisse, 253p.

-J-

Javidnia, K., Nasiri, A., Miri, R., Jamalian, A. (2007). Composition of the essential oil of *Helianthemum kahiricum* Del. From Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 19, 52-53.

-L-

Lehbili, M., Alabdul Magid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Morjani, H., Harakat, D., Kabouche, Z. (2018)a. Triterpenoid saponins from *Scabiosa stellata* collected in North-eastern Algeria *Phytochemistry*. 150, 40-49.

-M-

Miara, M.D., Ait Hammou, M., Dahmani, W., Negadi, M., Djellaoui, A. (2018). Nouvelles données sur la flore endémique du sous-secteur de l'Atlas tellien Oranais "O3" (Algérie occidentale). *Acta Botanica Malacitana*. 43 (2018). 63-69.

-P-

Pinela, J., Barros, L., Duenas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*. 135, 1028-1035.

Pousset, J.L. (1989). Plantes médicinales africaines, utilisation pratique, Ellipses, ACCT, Paris, 66-86.

PARTIE I

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE 1

Présentation du genre

Scabiosa

I.1.1 L'ordre des Dipsacales

L'ordre des Dipsacales (du latin *Dipsacus*, nom des Cardères) réunit 1 125 espèces en 2 familles : les Adoxaceae et les Caprifoliaceae. Nous traiterons ici la famille des Caprifoliaceae qui renferme l'espèce végétale que nous avons travaillée [Dupont et Guignard., 2015].

I.1.2 Famille des Caprifoliaceae

I.1.2.1 Généralités

La famille des Caprifoliaceae est une famille cosmopolite répartie en générale dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord (Europe, Asie, Amérique du Nord et Afrique du Nord) et sont absents de l'hémisphère sud, sauf dans quelques petits écaillage Indonésie (Figure I-1) [Spichiger et al.,2004].



Figure I-1. Distribution mondiale de la famille des Caprifoliaceae [1].

Son nom provenant du latin *Caprifolium*, qui signifie «feuille de chèvre/de bouc », car les tiges volubiles de certains chèvrefeuilles rappellent la forme des cornes de bouc.

I.1.2.2 Description botanique

Les Caprifoliacées sont des herbes, annuelles comme le Mâche, bisannuelles comme la Cardère (dont on s'est servi pour peigner les draps), vivaces comme la Valériane officinale (Figure I-2) ou des arbustes (Chèvrefeuille), parfois lianescents [Dupont et Guignard 2015].

Les caractéristiques générales permettant de reconnaître une plante appartenant à cette famille sont:

❖ L'inflorescence

L'inflorescence, du type cyme, marque une nette tendance à la condensation : chez certains Chèvrefeuilles, les ovaires, puis les fruits, des fleurs voisines peuvent être concrescents ; chez la Knautie (Figure I-2), Scabieuse et la Cardère le groupement des cymes forment des capitules, comme chez les Asteraceae, mais, ici, chaque fleur reste entourée par 2 bractées qui se soudent pour former un involucre.

❖ La fleur

La fleur comprend un calice à 4 ou 5 sépales et une corolle zygomorphe. Encore presque régulière chez la Symphorine, la Scabieuse, la corolle est bossue chez la Valériane officinale, longuement éperonnée chez le Centranthe rouge, bilabée chez la Mâche et plus encore chez les Chèvrefeuilles, elle devient tétramère chez la Cardère et la Knautie (Figure I-2).

❖ L'androcée

La zygomorphie, comme chez les Lamiaceae, entraîne l'avortement de l'étamine postérieure : l'androcée est tétramère. De plus, chez les Valérianes et alliées, on observe une réduction des étamines latérales : l'androcée devient trimère (Valériane, Mâche), dimère (*Fedia*) et ne comporte plus qu'une seule étamine chez le Centranthe rouge. Cette réduction se fait, curieusement, généralement en fonction du plan de symétrie des carpelles (différent de celui de la corolle) et la fleur n'a plus aucun plan de symétrie (Figure I-2).

❖ L'ovaire et le fruit

L'ovaire comprend de 2 à 3 carpelles (4 chez la Symphorine, mais seuls 2 sont fertiles). Les loges généralement uniovulées sont encore pluriovulées chez les Chèvrefeuilles et la Symphorine où les fruits sont des baies. Le style est allongé. Chez les Valérianes et les Mâches les 3 loges sont uniovulées et une seule fertile.

Toutes les plantes de la sous-famille des Dipsacaceae ont comme caractères constants la direction descendante de l'ovule, qui les séparent des Asteraceae, et la présence d'un albumen dans la graine, qui les distinguent des Asteraceae et des Valerianaceae [Baillon., 1880].

Le fruit est un akène, souvent surmonté chez les Valérianes d'un pappus, calice transformé ici en aigrettes (comme celui des Asteraceae) ; chez les Scabieuses, les Cardères les 2 carpelles, « ouverts », ne comprennent qu'un ovule et le fruit est également un akène.



Figure I-2. Dessin explicatif de l'appareil reproducteur de la famille des Caprifoliaceae
A à D : *Valériane officinale* : **A** : sommité fleurie ; **B** : diagramme floral ; ca, calice ; en pointillés, le plan de symétrie antéropostérieur de la corolle ; **C** : fleur ; **D** : akène surmonté du pappus. **E** : *Knautie* : ici, les capitules présentent des fleurs à 4 pétales et des étamines libres (contrairement aux Astéracées) [Dupont et Guignard 2015].

I.1.2.3 Position systématique

D'après la classification APG III (2009) et APG IV(2016) (Tableau I-1) cette famille englobe toutes les espèces des familles Valerianaceae, Dipsacaceae, et Caprifoliaceae excepte les deux genres *Sambucus* et *Viburnum* (appartenant au Adoxaceae) [Birgitta et al., 2009; Byng et al., 2016]. Elle comprend entre 810 et 900 [Spichiger et al., 2004] espèces réparties en 36 genres dont quatre sont les plus majeurs ; *Valeriana* (200 especes), *Lonicera* (150), *Valerianella* (50) et *Scabiosa* (100) [Judd et al., 2007 ; Carlson et al., 2012].

Tableau I- 1 : Position systématique de la famille des Caprifoliaceae d'après APG III [Chase et al., 2009].

Classification (APG III)	
Royaume	Plantes
Clade	Angiosperme
Clade	Eudicotilydone (dicotilydones)
Clade	Astérides
Clade	Capanulides
Ordre	Dipsacale
Famille	Caprifoliaceae
Sous famille	Dipsacaceae

I.1.3 Présentation du genre *Scabiosa*.L (scabieuses)

Le genre *Scabiosa* est un genre de plantes herbacées vivaces de la famille des Dipsacaceae selon la classification classique de Cronquist.(1981) et de la famille des Caprifoliaceae selon la classification phylogénétique (APG III) , comprend environ (80-100) [Carlson et al., 2012 ; Byng et al., 2016] espèces dont 12 en Algérie [Quezel et santa ., 1963]. Il est originaire de l'ancien monde (au cours du miocène), c'est avec la diversification et un mouvement indépendant que les scabieuses sont localisées en Europe, le bassin méditerranéen, l'Asie et l'Afrique [Carlson et al., 2012].

Etymologie

Le nom *scabiosa* vient du mot latin scabies signifiant gale, fait référence aux vertus de cette plante contre cette affection cutanée [Addisonia., 1954-1959].

I.1.3.1 Description botanique

Les plantes de ce genre sont des herbes pérennes, annuelles, biennales ou vivaces qui se dressent plus ou moins haut, leur taille variant, selon les espèces et les variétés, entre 30 et 80 cm avec des feuilles opposées, simples ou pinnatisides, des fleurs très-ordinairement terminales et des tiges presque ligneuses dans quelques espèces.

Le genre *Scabiosa* possède les caractéristiques morphologiques suivantes (Figure I-3,I-4) :

- ❖ **Un involucre** dont les bractées sont foliacées, rigides plus ou moins sèches, protégeant les fleurs.

- ❖ Les bractées plus haut sur le réceptacle, situées au-dessous de chaque fleur, présentent des caractères analogues, ordinairement étroites, Courtes, ou même elles disparaissent complètement.

Chacune des fleurs est entourée par un involuclle sacciforme persistant autour du fruit

- ❖ L'involuclle très-variable dans la diverse section du genre, quant à sa forme, les cotes ou les sillons qu'il porte, le nombre et la configuration des lobes ou des dents dont son orifice est découpé.

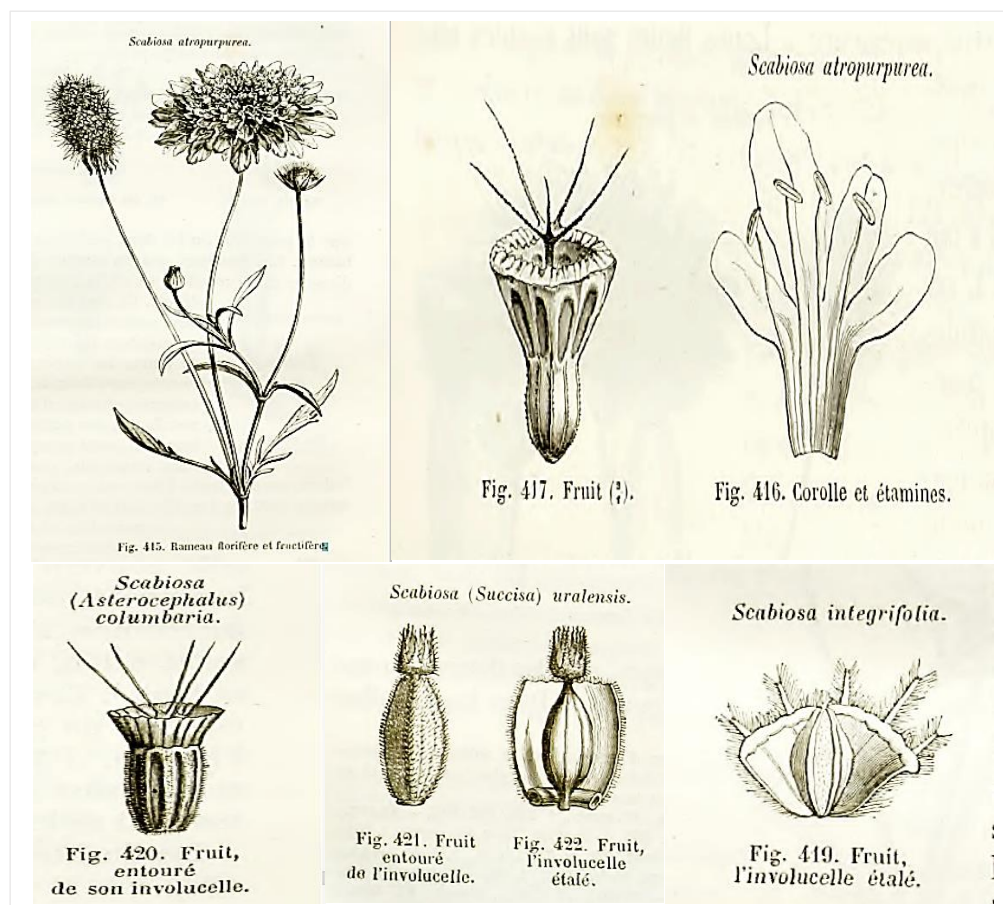


Figure I-3 : Diversité morphologique au sein du genre *Scabiosa* [Baillon., 1880].

Les fleurs sont agrégées, réunies sur un réceptacle commun, convexe, charge de paillettes ou de filaments roides, ou nu ; muni d'un calice commun ouvert, compose de folioles disposées sur un ou plusieurs rangs

Chaque fleur séparée offre :

- ❖ **Un calice** propre double, l'extérieur souvent plus court, membraneux, plissée, persistant, l'intérieur termine par cinq coupures subulées, presque capillaires.
- ❖ **Une corolle** monopétale, tubulée, a quatre ou cinq divisions régulières ou irrégulières, insérée sur le calice interne.
- ❖ **Quatre étamines**, quelquefois cinq, dont les filaments sont tubules, capillaires, attaches au bas du tube de la corolle, termines par des anthères oblongues, horizontales.
- ❖ **Un ovaire** environne par une gaine propre en forme de petit calice, termine par un stigmate échancre.

Les semences sont enveloppées par les deux calices propres, solitaires, ovales -oblongues, diversement couronnées par les calices [Lamarck et poiret., 1804 ; Baillon., 1880].



Figure I-4 : Les différentes parties de *Scabiosa arvensis* L (Scabieuse des champs) [Masclef., 1891].

I.1.3.2 Utilisation en médecine traditionnelle

Plusieurs espèces du genre *Scabiosa* sont utilisées en médecine traditionnelle populaire pour guérir un bon nombre de maladies, Nous citons par exemple :

- *Scabiosa stellata* est utilisée en médecine traditionnelle marocaine comme cataplasme, associée à la graisse de poulet et à l'huile d'olive contre les fissures au talon [Kahouadji., 1995 ; Bammi et Douira., 2002]. Elle est utilisée aussi pour le traitement de nombreuses maladies respiratoires à savoir : bronchite, pneumonie bronchique, grippe et asthme. Elle est utilisée comme : expectorant, purifiant, diaphorétique, gastrique, apéritif et digestif [Aidi Wannas et Marzouk., 2016].
- *Scabiosa Succisa* (appelé aussi L'herbe de Saint Joseph) est connue comme plante tinctoriale donnant une couleur verte et astringente utile pour préparer les peaux, [Lebreton., 2014] elle est particulièrement réputée comme fébrifuge, dépuratives, expectorantes et vulnéraires. Cette espèce est employée aussi contre la grippe et pour soigner les problèmes des voies respiratoires, principalement la bronchite. [Bussman et al., 2010].
- *S. sylvatica* et *S. Columbaria* sont employées contre les maladies pulmonaires et la gale .*S. centauroides* est utilisé en Europe comme antisypilitique et tidartreux. [Baillon., 1880].
- *S. arvensis* : Cette plante est utilisée dans la médecine populaire Algérienne contre les diarrhées, les inflammations et comme antiseptique pour les voies urinaires. Elle permet de resserrer les tissus et purifie le sang. Elle serait aussi employée dans les cas d'infections de la peau (démangeaisons, contusions et gerçures). C'est également une plante ornementale [Chorfi et al., 2012].
- *S. Columbaria*: La drogue préparée à partir des racines séchées et torréfiées de cette plante mélangée avec une graisse animale est préconisées pour son action cicatrisante chez les populations du Sud d'Afrique [Grierson et Afolayan., 1999]. Des infusions de feuilles et de racines sont aussi utilisées pour traiter les coliques chez la femme enceinte, pendant les accouchements difficiles et pour l'infertilité [Watt et Breyer-Brandwijk ., 1962], ainsi cette plante est employée comme anticatarrhal [Agelet et Valles., 2001] contre la diphtérie, et pour le traitement de hypertension artérielle [Rigat et al., 2007 ; Kose et al., 2015].

- *S. atropurpurea* L : En catalogue les parties aériennes de cette plante sont utilisées pour leurs propriétés diurétiques [Bonet et Valles., 2007]. L'infusion des fleurs est également employée pour traiter la rougeole, le furoncle [Bonet et al., 1999], la Coqueluche, le rhume, la bronchite, et la toux Compulsif [Bussmann et Sharon., 2015].
- *Scabiosa comosa* Fisch et *S. tschilliensis* Grunning (ST) : les inflorescences de ces deux espèces sont utilisés contre les maladies du foie [Chinese pharmacopoeia comitee 1998].

I.1.3.3 Quelques Activités biologiques du genre *Scabiosa*

Les plantes du genre *Scabiosa* sont connues pour leur richesse en saponosides et iridoïdes, possédant diverses et intéressantes activités biologiques, notamment l'activité : antidiabétique [Hlila et al., 2015 b], anti-VHC (*Virus de l'Hépatite C*) [Ma et al., 2015], antibactérienne et antioxydante [Christopoulou et al., 2008 ; Bussmanna et al., 2010 ; Van Vuuren et Naidoo., 2010 ; Hlila et al., 2013].

- Les extraits AcOEt, BuOH et aqueux des fleurs, fruits, feuilles et tiges de l'espèce *Scabiosa arenaria* ont été évalués pour leur pouvoir antioxydant en utilisant les méthodes de piégeage du radical ABTS et DPPH, le test de blanchiment de la beta carotène et le pouvoir réducteur. L'extrait acétate d'éthyle des fleurs a montré une forte activité *vis-à-vis* tous les tests avec des plus faibles valeurs de CI_{50} et CE_{50} pour le test de DPPH et le pouvoir réducteur ($CI_{50}=0.017$ mg/mL et $CE_{50}=0.02$ mg/mL) respectivement [Hlila et al., 2013].
- L'investigation de la fraction butanolique des racines de la même espèce a montré une activité antioxydante intéressante pour le test de blanchissement de la β carotène ($CI_{50}=0.018 \pm 0.009$ mg/ml). Par ailleurs cette fraction ainsi que les fractions acétate d'éthyle et butanolique des feuilles plus tiges ont montré une meilleure activité anti-acétylcholinestérase avec des $CI_{50}=0.02 \pm 0.003$, 0.016 ± 0.01 , 0.029 ± 0.02 mg/ml respectivement [Hlila et al., 2013 ; Hlila et al., 2015 a].
- Les mêmes fractions ont été testées pour leur pouvoir inhibiteur de α glucosidase, il a été démontré que la fraction acétate et butanolique des fruits ainsi que la fraction acétate des fleurs exercent une inhibition non compétitive pour cette enzyme avec des CI_{50} de 0.11 ± 0.09 , 0.28 ± 0.04 et 0.221 ± 0.01 mg/ml, respectivement [Hlila et al., 2015 b].

- L'extrait éthanolique de *Scabiosa atropurpurea* a subi une investigation biologique en vue de mettre en évidence d'éventuelles propriétés antibactériennes. Les résultats ont révélé que l'extrait a manifesté une activité intéressante *vis-à-vis* la souche *Staphylococcus aureus* avec une concentration inhibitrice minimum de CIM=32 µg/ml [Bussmanna et al., 2010].
- L'effet antibactérien de l'extrait chloroformique et méthanolique de *Scabiosa hymettia* a été évalué contre deux bactéries gramme positive (*Staphylococcus aureus* et *Epidermatis*) et quatre bactéries gramme négative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*). Il a été prouvé que ces extraits bruts exhibent une activité antimicrobienne modérée avec des zones d'inhibition qui varient entre 9 et 12 mm [Christopoulou et al., 2008].
- Une autre étude menée sur l'espèce *Scabiosa columbaria* a montré que les extraits dichlorométhane : méthanol et aqueux des racines et feuilles présentent une activité antimicrobienne contre *Candida albicans* ATCC 10231 avec une (CIM=4 mg/ml, 8mg/ml) et (CIM =3mg/ml, 2mg/ml) respectivement. D'une autre part l'extrait dichlorométhane :méthanol des feuilles possèdent une meilleure activité contre *Trichomonas vaginalis* (souche clinique), *Oligella ureolytica* ATCC 43534, *Ureaplasma urealyticum* (souche clinique) avec une CIM=3mg/ml [Van Vuuren et Naidoo., 2010].

I.1.3.4 Les Métabolites isolés du genre *Scabiosa*

Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *Scabiosa* montre qu'elles ont fait l'objet de nombreuses investigations phytochimiques depuis 1968. Celles-ci ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires. Les substances dominantes sont les saponines, les flavonoïdes avec les iridoïdes qui présentent de multiples propriétés biologiques et pharmacologiques.

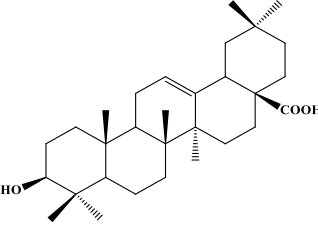
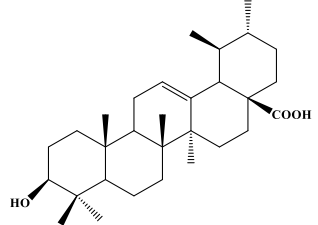
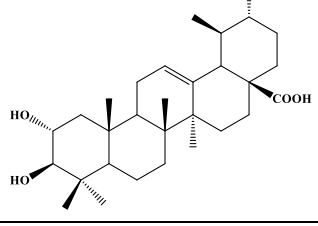
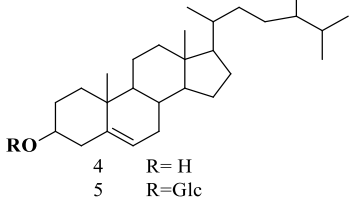
Ces études chimiques ont montré aussi la présence de : tritpènes, coumarines et autres composés phénoliques, ainsi que les huiles essentielles. Les pages qui suivent tracent un aperçu non exhaustif, pour ne pas tomber dans le fastidieux, des différents composés rencontrés dans le genre *Scabiosa*.

❖ Les triterpènes et les stérols

A partir de cinq espèces du genre *Scabiosa* trois triterpènes sont mis en évidence. L'investigation phytochimique de *S. caucasica* et *S. tschiliensis* [Garaev et al., 2008 ; Wang et al., 2015] a conduit à l'isolement de l'acide oléanolique (1) alors que l'acide ursolique (2) est caractérisé à partir de *S. stellata*, *S. prolifera* L et *S. sicula* [Rahmouni et al 2017; Al-Qudah et al., 2017 ; Lehbili et al., 2018 ; Kılınç et al., 2020] et l'acide corosolique (3) à partir de *S. prolifera*. L [Al-Qudah et al., 2017].

Deux phytostérols ont été isolés et identifiés dans plusieurs espèces du genre *Scabiosa*: le β -sitosterol (4) et le daucosterol (5) (Tableau I-2).

Tableau I-2 : Triterpènes et stérols isolés du genre *Scabiosa*.

N°	Nom	Structure	Espèce	Référence
1	Acide oléanolique		<i>S. caucasica</i> <i>S. tschiliensis</i>	[Garaev et al., 2008] [Wang et al., 2015]
2	Acide ursolique		<i>S. stellata</i> <i>S. prolifera</i>	[Lehbili et al., 2018] [Rahmouni et al., 2017] [Al-Qudah et al., 2017] [Kılınç et al., 2020]
3	Acide corosolique		<i>S. prolifera</i>	[Al-Qudah et al., 2017]
4 5	β -sitosterol daucosterol	 4 R= H 5 R= Glc	<i>S. tschiliensis</i> <i>S. prolifera</i> <i>S. songorica</i> <i>S. prolifera</i> L	[Wang et al., 2015] [Al-Qudah et al., 2017] [Akimaliev et al., 1988]

❖ Les saponines

Trente-trois saponosides ont été isolés à partir de cinq espèces du genre *Scabiosa*. Ce sont des glycosides de l'acide oléanolique, l'acide pomolique, l'acide siarésinologique, l'acide ursolique et l'héderagenine, dont la partie osidique est constituée de un à sept sucres constituée du β -D-xylose (Xyl), α -L-rhamnose (Rha), β -D-glucose (Glc), β -D-allose (Als) et α -L-arabinose (Ara). Les différentes structures des saponosides isolés à partir de ces espèces sont élucidées dans le [Tableau I-3](#).

L'investigation chimique de l'extrait éthanolique des racines de *S. soongorica* [[Akimaliev et al., 1976 a](#), [Akimaliev et al., 1976 b](#)] a abouti à la caractérisation de sept glycosides de l'acide oléanolique (**6-12**) nommés Songoroside **A, C, E, G, I, M** et **O**.

Alors que l'investigation chimique réalisé sur les racines de *S. rotata* [[Baykal et al., 1998](#)] a permis l'isolement et l'identification de quatre saponosides bidesmosides de l'acide pomolique qui sont les Scabiosides **A, B, C, D** (**13-16**).

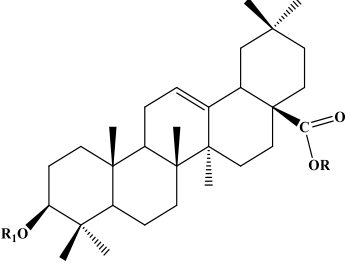
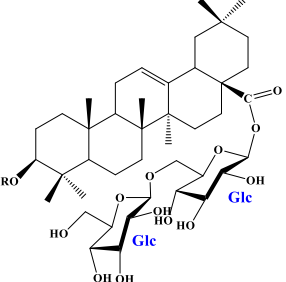
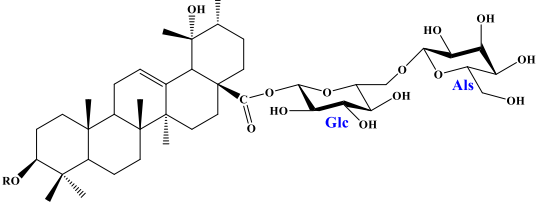
Une étude phytochimique réalisée par Zheng et collaborateurs [[Zheng et al., 2004](#)] sur l'espèce *S. tchilliensis*, a mis en évidence onze saponines triterpéniques (**17-23, 26-29**) de structures nouvelles appelés Scabiosaponines **A-K**, également l'Hookeroside **A** (**24**) et Hookeroside **B** (**25**), ont été trouvés dans cette plante. La partie osidique est constituée des mêmes sucres retrouvés dans les saponines de *S. rotata* excepte de l'allopyranose, cette partie porte de quatre à sept unités.

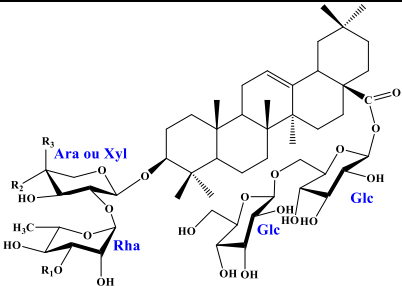
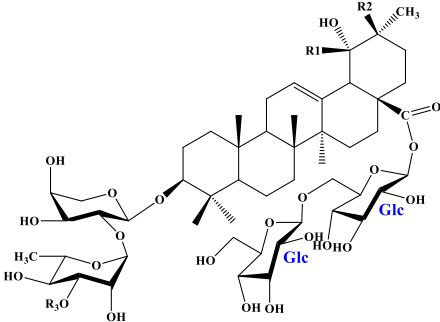
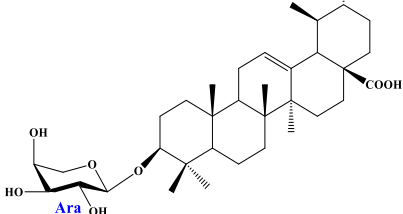
L'acide ursolique-3-O- β -L-arabinopyranoside (**30**) est un glycoside de l'acide ursolique a été isolé à partir de l'espèce *S. prolifera* [[Al-Qudah et al., 2017](#)].

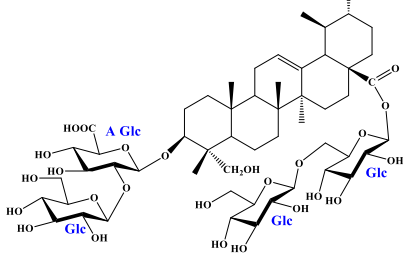
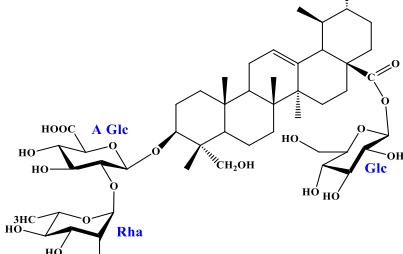
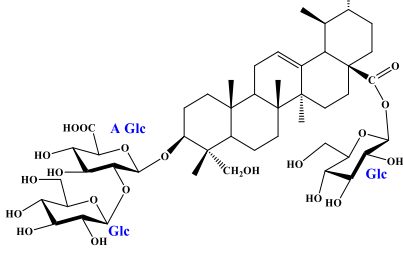
Neuf saponines ont été isolées à partir de l'extrait éthanolique de *Scabiosa stellata* dont huit de structures nouvelles (**31-38**) portant le nom de Scabiostallatosides **A-H**. Ce sont des bidesmosides (**31-35, 37-39**) et un seul monodesmoside (**36**) de l'acide oléanolique et l'héderagenine [[Lehbili et al., 2018 a](#)].

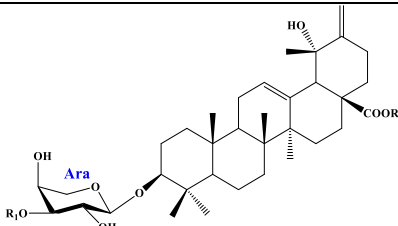
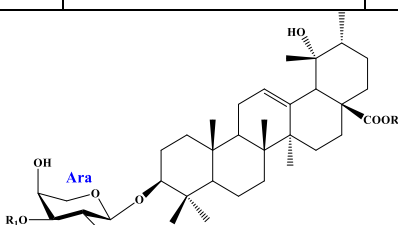
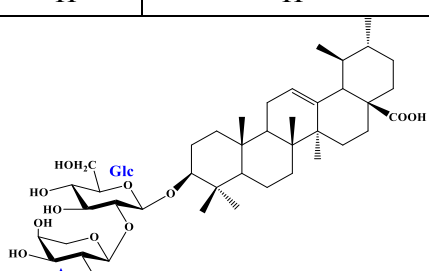
A l'issue d'une investigation phytochimique récente réalisée sur l'espèce *S. sicula* Kılınç et collaborateurs ont pu identifier dix-huit saponines dont huit ont été de structures nouvelles, nommées Scabioside **A-H** (**40-45, 47, 49**) et neuf connus (**46, 48, 50-57**) [[Kılınç et al., 2020](#)]. Ce sont des mono et bidesmosides dérivés de l'acide : ursolique, pomolique et oléanolique.

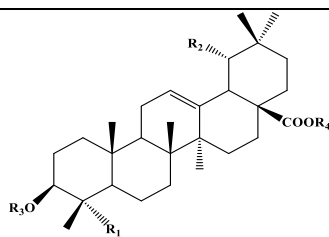
Tableau I-3 : Structure des saponosides isolés du genre *Scabiosa*.

					
N°	Nom	R	R ₁	Espèce	Référence
6	Songoroside A	H	Xyl	<i>S.songorica</i>	[Akimaliev et al., 1976 a]
7	Songoroside C		Rha (1→3) Xyl		
8	Songoroside E	H	Xyl (1→3) Rha (1→3)Xyl		
9	Songoroside G	H	Xyl(1→3)Xyl(1→3)Rha-(1→3)Xyl		
10	Songoroside I	H	Xyl (1→3)Xyl (1→3)Xyl (1→3) Rha (1→3)Xyl		
					
11	songoroside O	H	Xyl(1→3) Xyl(1→3)Rha(1→3)Xyl	<i>S.songorica</i>	[Akimaliev et al., 1976 b]
12	Songoroside M	H	Xyl(1→3) Xyl(1→3)Xyl(1→3)Rha(1→3)Xyl		
					
N°	Nom	R	Espèce	Référence	
13	Scabioside A	Xyl	<i>S.rotata</i>	[Baykal et al., 1998]	
14	Scabioside B	Rha (1→2) Xyl			
15	Scabioside C	Rha (1→2) Ara			
16	Scabioside D	Glc (1→3) Rha (1→2) Xyl			

						
N°	Nom	R ₁	R ₂	R ₃	Espèce	Référence
17	Scabiosaponine A	Glc(1→4)Xyl	H	OH	<i>S.tschiliensis</i>	[Zheng et al., 2004]
18	Scabiosaponine B	Xyl(1→4)Glc (1→4)Xyl	H	OH		
19	Scabiosaponine C	Glc(1→4)Xyl	H	O-Glc		
20	Scabiosaponine D	H	H	O-Glc		
21	Scabiosaponine E	Xyl	OH	H		
22	Scabiosaponine F	Glc	OH	H		
23	Scabiosaponin G	Glc(1→4)Glc	OH	H		
24	Hookeroside A	Glc(1→4)Xyl	OH	H		
25	Hookeroside B	Xyl(1→4)Glc (1→4)Xyl	OH	H		
						
N°	Nom	R ₁	R ₂	R ₃	Espèce	Référence
26	Scabiosaponine H	CH ₃	H	Glc(1→4)Glc	<i>S.tschiliensis</i>	[Zheng et al., 2004]
27	Scabiosaponine I	CH ₃	H	Glc		
28	Scabiosaponine J	H	CH ₃	Glc		
29	Scabiosaponine K	H	CH ₃	Glc(1→4)Xyl		
N°	Nom				Espèce	Référence
30	l'acide ursolique- 3-O-β-L- arabinopyranoside				<i>S.prolifera.L</i>	[Al-Qudah et al., 2017]

N°	Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Espèce	Référence
31	Scabiostellatoside A	H	H	OH	Glc (1→6) Glc	<i>S. stellata</i>	[Lehbili et al.,2018 a]
32	Scabiostellatoside B	H	OH	H	Glc (1→6) Glc		
33	Scabiostellatoside C	Glc	H	OH	Glc (1→6) Glc		
34	Scabiostellatoside D	Glc	OH	H	Glc (1→6) Glc		
35	Scabiostellatoside E	H	H	O-Glc	Glc (1→6) Glc		
36	Scabiostellatoside F	Glc (1→4) Glc(1→4)Glc	OH	H	H		
37	Scabiostellatoside G						
38	Scabiostellatoside H						
39	Palustroside III						

					
N°	Nom	R ₁	R ₂	Espèce	Référence
40	Scabioside A	Glc	Glc (1→6) Glc	<i>S. sicula</i>	[Kılınç et al., 2020]
41	Scabioside B	Glc	Als (1→6) Glc		
42	Scabioside D	H	Glc (1→6) Glc		
43	Scabioside E	H	Als (1→6) Glc		
44	Scabioside G	H	Glc		
45	Scabioside H	H	H		
					
N°	Nom	R ₁	R ₂		
46	Ilexoside VIII	Glc	Glc (1→6) Glc	<i>S. sicula</i>	[Kılınç et al., 2020]
47	Scabioside C	Glc	Als (1→6) Glc		
48	Mazusaponin II	H	Glc (1→6) Glc		
49	Scabioside F	H	Als (1→6) Glc		
50	Gouguside 7	H	Glc		
51	Gouguside 1	H	H		
52	Acide 3β-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranosyl]-urs-12-ène-28-oïque				



N°	Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Espèce	Référence
53	Mazusaponin I	CH ₃	OH	Ara	Glc (1→ 6) Glc	<i>S.sicula</i>	[Kılınç et al., 2020]
54	Araliasaponin II	CH ₃	H	Glc (1→ 3) Ara	Glc (1→ 6) Glc		
55	Hederagenin 3-O-β-D-glucuronopyranoside	CH ₂ OH	H	Ac GLc	H		
56	Acide 3β-α-L-arabinopyranosyl-19α-hydroxyoléan-12-ène-28-oïque	CH ₃	OH	Ara	H		
57	Ilexoside A	CH ₃	OH	Xyl	H		

❖ Iridoïdes

Les iridoïdes, composés largement répandus dans la nature, sont présents particulièrement au sein de nombreuses plantes médicinales. Leur importance biologique a été largement démontrée.

• Les mono- Iridoïdes

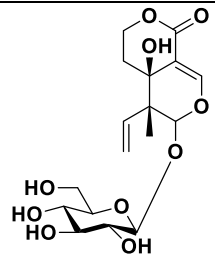
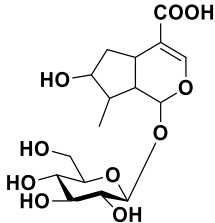
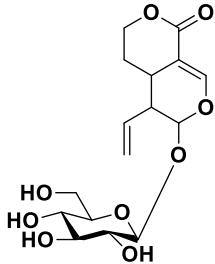
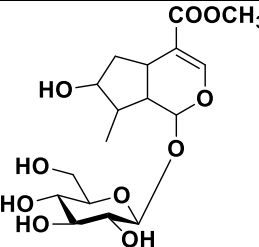
L'investigation phytochimique de *S. variifolia*, *S. hymattia*, *S. columbaria*, *S. atropurpurea* SSP *maritima* *S. tchilliensis* et *S. stellata* a permis l'isolement et l'identification de six mono-iridoïdes (Tableau I-4). Il s'agit de : Swertiamarine (58), l'acide loganique (59), Sweroside (60), Loganine (61), l'Eustomorusside (62) et Eustomoside (63) [Horn et al., 2001 ; Papalexandrou et al., 2003 ; Christopoulou et al., 2008 ; Polat et al., 2010 ; Wang et al., 2015 ; Lehbili et al., 2018 b].

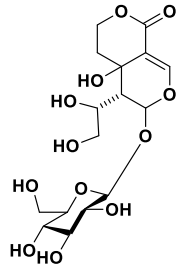
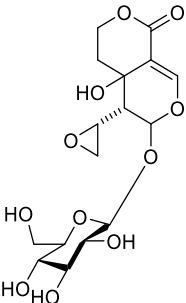
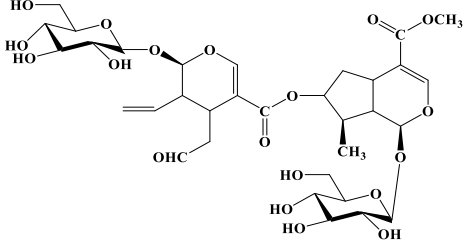
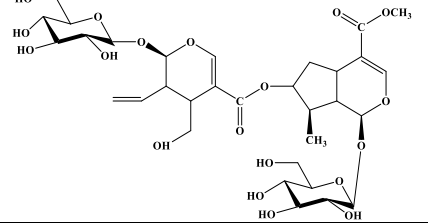
• Les Bis-iridoïdes

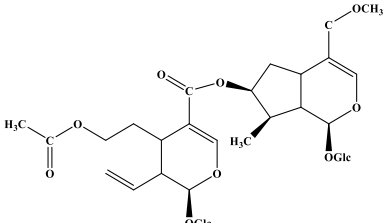
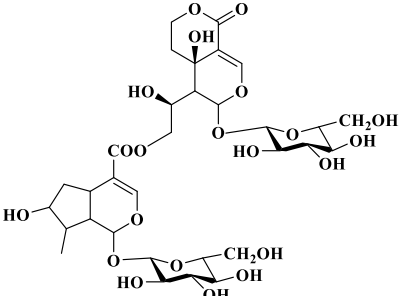
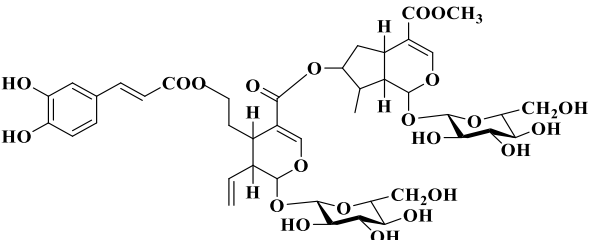
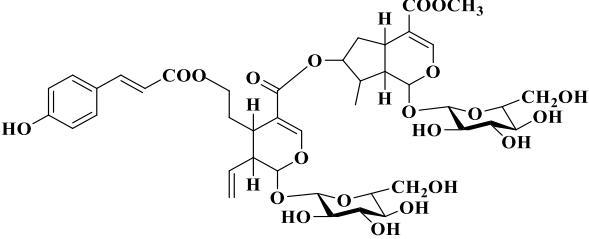
L'investigation phytochimique de l'espèce *S variifolia* a conduit à l'isolement d'un seul Bis-iridoïde nommé Cantléyoside (64) [Papalexandrou et al., 2003]. Ce composé est trouvé aussi dans les racines de *S. atropurpurea* SSP *maritima* [Polat et al., 2010]. alors que le Sylvestroside I (65) et II (66) ont été caractérisés de *S. tchilliensis* [Wang et al., 2015].

Quatre Bis-iridoïdes dont deux de structures nouvelles ont été également isolés à partir de l'extrait éthanolique de *S. stellata*. Il s'agit de: Sylvestroside I (65), Septemfidoside (67) -*O*-(*E*-caffeoyle)-Sylvestroside I (68) et le 7-*O*-(*E*-p-coumarylole)-Sylvestroside I (69) [Lehbili et al., 2018 b].

Tableau I-4 : Structure des iridoïdes isolés du genre *Scabiosa*.

N°	Nom	Structure du composé	Espèce	Référence
58	Swertiamarine		<i>S.variifolia</i> <i>S.hymettia</i>	[Papalexandrou et al., 2003] [Christopoulou et al., 2008]
59	Acide loganique		<i>S.variifolia</i> <i>S.hymettia</i> <i>S.atropurpurea</i> . <i>L SSP maritima</i>	[Papalexandrou et al., 2003] Christopoulou et al., 2008] [Polat et al., 2010]
60	Sweroside		<i>S.variifolia</i> <i>S.hymettia</i> <i>S.atropurpurea</i> SSP <i>maritime</i> <i>S. tchilliensis</i>	[Papalexandrou et al., 2003] [Christopoulou et al., 2008] [Polat et al., 2010] [Wang et al., 2015] [Horn et al., 2001]
61	Loganine			

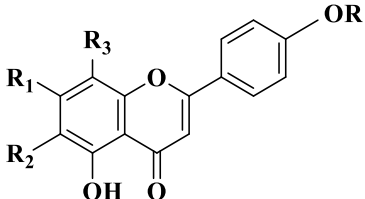
62	Eustomorusside		<i>S. stellata</i>	[Lehbili et al., 2018 b].
63	Eustomoside			
64	Cantleyoside		<i>S. variifolia</i> <i>S. atropurpurea</i> SSP <i>maritima</i>	[Papalexandrou et al., 2003] [Polat et al., 2010]
65	Sylvestroside I		<i>S. stellata</i> <i>S. tchiliensis</i>	[Lehbili et al., 2018 b] [Wang et al .,2015]

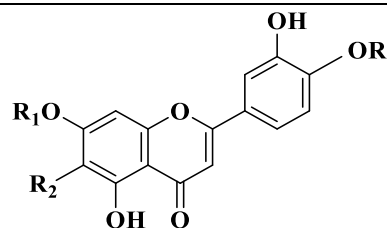
66	Sylvestroside II		<i>S. chilensis</i>	[Wang et al., 2015]	
67	Septemfidoside		<i>S. stellata</i>	[Lehbili et al., 2018 b].	
68	7- <i>O</i> -(<i>E</i> -caffeoyl)-sylvestroside I				
69	7- <i>O</i> -(<i>E</i> -p-coumaryl)-sylvestroside I				

❖ Les flavonoïdes

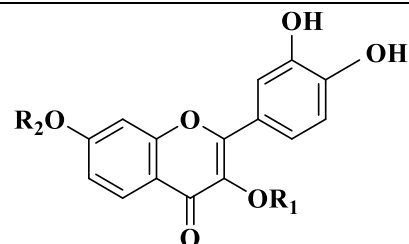
Les flavonoïdes décrits à ce jour pour le genre *Scabiosa* sont quasiment toujours des flavonols et des flavones glycosylés dérivés de l'apigénine, lutéoline, quercétine et kaempferol (70-95) (Tableau I-5).

Tableau I-5: Structure des flavonoïdes isolés à partir du genre *Scabiosa*.

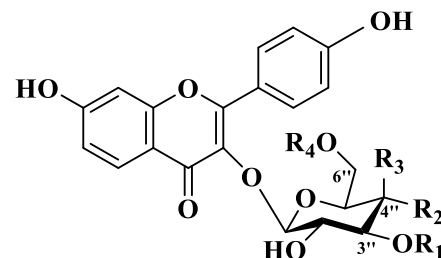
							
N°	Nom	R	R1	R2	R3	espèces	référence
70	Apigénine	H	OH	H	H	<i>S. caucasica</i> , <i>S. tchilliensis</i> <i>S. tenuis</i> , <i>S. argentea</i> <i>S. prolifera</i>	[Garaev et al., 2008] [Wang et al., 2015] [Al-Qudah et al., 2017] [Perdetzoglou et al., 1994] [Ma et al., 2015]
71	Cosmosine	H	O-Glc	H	H	<i>S. arenarea</i> , <i>S. tchilliensis</i> , <i>S.comosa</i>	[Wang et al., 2015] [Ma et al., 2015] [Hlila et al., 2016]
72	Apigénine-7-O-β-D-rutinoside	H	O-Rha (1→6) Glc	H	H	<i>S. tchilliensis</i> , <i>S. comosa</i>	[Wang et al., 2015]
73	Apigénine-4'-O-β-D-glucoside	Glc	OH	H	H		[Ma et al., 2015]
74	Isovitexine	H	OH	Glc	H	<i>S. tenuis</i>	[Perdetzoglou et al., 1994]
75	Vitexine	H	OH	H	Glc		
76	Swerticine	H	O-CH ₃	Glc	H	<i>S. atrpurpuria</i> , <i>S. algea</i>	[Zemtsova et al., 1977]



N°	Nom	R	R1	R2	espèces	référence
77	Lutéoline	H	H	H	<i>S. tchilliensis</i> , <i>S. tenuis</i> , <i>S.comosa</i> , <i>S. arenarea</i>	[Wang et al., 2015] [Perdetzoglou et al., 1994] [Ma et al., 2015] [Hlila et all., 2016]
78	Cynaroside	H	Glc	H	<i>S. caucasica</i> , <i>S.tchilliensis</i> <i>S.columbaria</i> , <i>S.georgica</i> , <i>S.prolifera</i> <i>S.tenuis</i> , <i>S.argentea</i> , <i>S.arenarea</i>	[Garaev et al., 2008] [Wang et al., 2015] [Al-Qudah et al., 2017] [Perdetzoglou et al., 1994] [Ma et al., 2015] [Hlila et al., 2016]
79	Lutéoline-4'-O-β-D-glucoside	Glc	H	H	<i>S. tchilliensis</i> , <i>S.comosa</i>	[Wang et al., 2015] [Ma et al., 2015]
80	Lutéoline-7-O-β-D-gentiobioside	H	Glc(1→6)Glc	H	<i>S. tenuis</i> , <i>S. argentea</i>	[Perdetzoglou et al., 1994]
81	Isoorientine	H	H	Glc	<i>S.tchilliensis</i> , <i>S. prolifera</i> <i>S.argentea</i> , <i>S. comosa</i>	[Wang et al., 2015] [Al-Qudah et al., 2017] [Perdetzoglou et al., 1994] [Ma et al., 2015]
82	Palustroside	CH3	Ara (1→6) Glc	H	<i>S. caucasica</i>	[Garaev et al., 2008]
83	Diosmetine-7-O-β-glucoside	CH3	Glc	H	<i>S. argentea</i>	[Perdetzoglou et al., 1994]
84	Lutéoline-7-O-(2''O-éthyl-β-D-glucoside)	H	2''O-éthyl-Glc	H	<i>S. prolifera</i>	[Al-Qudah et al., 2017]



N°	Nom	R1	R2	espèces	référence
85	Quercetine	H	H	<i>S. caucasica</i> , <i>S. argentea</i>	[Perdetzoglou et al., 1994] [Garaev et al., 2008]
86	Hyperoside	Gal	H	<i>S. caucasica</i> , <i>S. argentea</i>	
87	Quercetin-3- β -D-arabinoside	Ara	H	<i>S. argentea</i>	[Perdetzoglou et al., 1994]
88	Quercetin-3-glucoside	Glc	H	<i>S. comosa</i>	[Ma et al., 2015]
89	Quercetine-3-rutinoside	Rha (1 \rightarrow 6) Glc	H		
90	Quercimeritrine	OH	Glc	<i>S. caucasica</i> .	[Garaev et al., 2008]

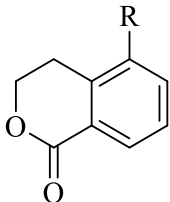
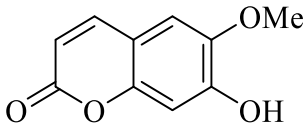


N°	Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	espèces	référence
91	Astragaline	H	OH	H	H	<i>S. hymettia</i>	[Christopoulou et al.,2008]
92	Kaempferol-3- <i>O</i> -β-D-(3''- <i>O</i> -Acétyl-6''- <i>O</i> - <i>E</i> - <i>p</i> -coumaryol)-glucoside	COCH ₃	OH	H	<i>p</i> -(<i>E</i>)coumaroyl	<i>S. hymettia</i> <i>S. stellata</i>	[Christopoulou et al.,2008] [Lehbili et al.,2018]
93	Kaempferol-3- <i>O</i> -β-D-6- <i>O</i> -(<i>p</i> -hydroxycinnamoyl)-glucoside	H	OH	H	<i>p</i> -(<i>E</i>)-hydroxycinnamoyl	<i>S. tchilliensis</i>	[Wang et al.,2015]
94	Kaempferol-3- <i>O</i> -β-D-(3'',6''-di- <i>O</i> - <i>p</i> -(hydroxycinnamoyl)-glucoside	<i>p</i> -(<i>E</i>)hydroxycinnamoyl	H	H	<i>p</i> -(<i>E</i>)-hydroxycinnamoyl		
95	Kaempferol-3- <i>O</i> -β-D-(4'',6''-di- <i>E</i> - <i>p</i> -coumaryol)-galactopyranoside	H	H	<i>p</i> -(<i>E</i>)coumaroyl	<i>p</i> -(<i>E</i>)coumaroyl	<i>S. prolifera</i>	[Al-Qudah et al., 2017]

❖ Les coumarines

Trois coumarines (96-98) ont été caractérisées après l'étude effectuée sur l'espèce *S. hymettia* (Tableau I-6).

Tableau I-6: Structure de coumarines isolées à partir du genre *Scabiosa*.

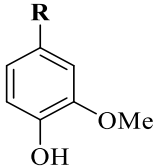
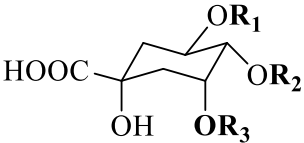
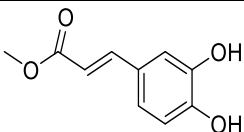
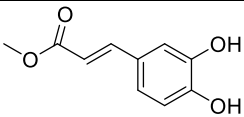
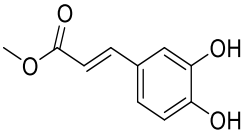
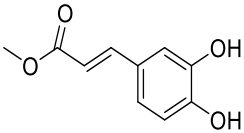
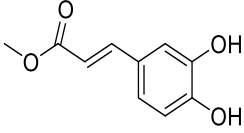
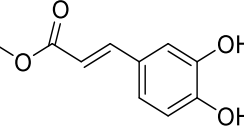
N°	Nom	Structure	espèce	référence
96	Erythrocentaurine	 96 R= CHO 97 R=CH ₂ OH	<i>S. hymettia</i>	[Christopoulou et al., 2008]
97	5(hydroxyméthyl)-isochroman-1-one			
98	Scopoletine			

❖ Les acides phénoliques et acides gras

Dix composés phénoliques (Tableau I-7) ont été caractérisés après des études phytochimiques effectuées sur trois scabieuses.

L'investigation chimique réalisée sur l'espèce *S. hymettia* [Christopoulou et al., 2008] a conduit à l'isolement de la vanilline (99) et l'acide vanillique (100).

Une étude quantitative de *S. comosa* et *S. tschiliensis* [Ma et al., 2015] a permis d'identifier huit acides phénoliques dont trois sont de dérivés de l'acide caféoyl-quinique (DCQ): 3,5-DCQ (101), 4,5-DCQ (102), 4-DCQ (103), l'acide chlorogénique (104), l'acide quinique (105) l'acide caféique (106), l'acide protocatéchique (107) et l'acide *p*-coumarique (108). De même à partir de la dernière espèce [Wang et al., 2015] deux acide gras ont été purifiés (109,110).

						
N°	Nom	R			espèce	référence
99	La vanilline	CHO			<i>S. hymettia</i>	[Christopoulou et al., 2008]
100	Acide vanillique	CH ₂ OH				
						
N°	Nom	R1	R2	R3	espèce	référence
101	3,5-DCQ		H		<i>S.comosa</i>	[Ma et al.,2015]
102	4,5-DCQ	H				
103	3,4-DCQ			H		

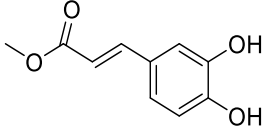
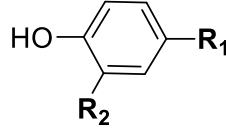
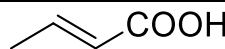
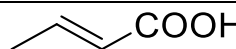
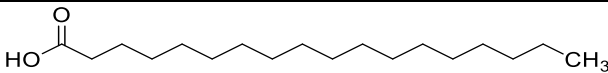
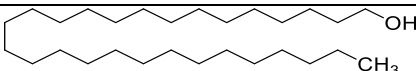
104	Acide chlorogénique		H	H		
105	Acide quinique	H	H	H		
						
N°	Nom	R1	R2	espèce	référence	
106	Acide caféique	OH		<i>S. comosa</i>	[Ma et al., 2015]	
107	Acide protocatéchique	OH	COOH			
108	Acide <i>p</i> -coumarique	H				
N°	Nom	Structure		espèce	référence	
109	Acide stéarique			<i>S. tschilliensis</i>	[Wang et al., 2015]	
110	Acide octacosanole					

Tableau I-7: Structure des acides phénoliques et des acides gras isolés du genre *Scabiosa*.

❖ Les huiles essentielles

L'analyse par GC-FID and GC/MS des huiles essentiels isolés de fruits, tiges plus feuilles, et fleurs issue de l'espèce endémique du nord d'Afrique *Scabiosa arenarea* Forrsk a permis de mettre en évidence dans les trois extraits respectivement: 61 (99.26% de la composition totale de l'huile), 79 (98.43%), et 51 composés (99.9 %), dont les composés majeurs constituant l'huile des fruits sont l' α -thujone (34.39%), le camphre (17.48%) et le β -thujone (15.29%) . Alors que le chrysanthénone (23.43%, 38.52%), avec le camphre (12.98%, 11.75%) et l' α -thujone (10.7% , 9.5%) constituant les principaux composés des huiles des (tiges plus feuilles) et fleurs respectivement [Besbes et al., 2012].

Les composés prédominants dans les huiles essentielles de l'extrait par CO₂ de *S. ochroleuca* sont la santonine (21.8%), le 1,8- cineole (14.9%), l'acide *n*-hexadecanoïque (5.6%), campesterol (5.0%), α -thujone (4.8%), et un constituant qui était probablement un stéroïde. Alors que les huiles essentielles de l'extrait de CO₂ de *S. isetensis* sont caractérisées par de fortes teneurs en 1,8-cineole (29.1%), α -santonin (10.6%), α -thujone (9.8%), β -thujone (5.0%) et un constituant non identifié qui était probablement un stéroïde (16.4%) [Zhunusova et al., 2017].

I-1.4 L'espèce *Scabiosa semipapposa* Salzm

I.1.4.1 Position systématique

Royaume	Plantes
Clade	Angiosperme
Clade	Eudicotilydone (dicotilydones)
Clade	Astérides
Clade	Capanulides
Ordre	Dipsacale
Famille	Caprifoliaceae
Sous famille	Dipsacaceae
Espèce	<i>Scabiosa semipapposa</i>

I.1.4.2 Distribution géographique

L'espèce *Scabiosa semipapposa* (Figure I-5) est une plante endémique d'Algérie et du Maroc [Devesal et al., 2004].

I.1.4.3 Description botanique

L'espèce *S. semipapposa* Salzm est une plante annuelle (Figure I-5), rarement vivace mais jamais sous-frutescente avec des tiges florifères, feuillées, ramifiées.

Les feuilles sont pinnatilobées ou pinnatisectées, à lobes latéraux peu nombreux, le terminal bien plus grand.

L'achaine est quadrangulaire, étroites, à cotes épaisses, peu ou pas ciliées, séparées par des sillons profonds et étroits. L'involucelle est peu évasée, peu distincte du reste de l'achaine, plus courte que les fruits.

Les fruits sont souvent dimorphes, les supérieurs à calice développé en 5 soies et les inférieurs privés de soies, l'involucelle est très réduite, le nombre des achaines de chacune de ces deux formes étant très variables, l'une ou l'autre, des formes peut même disparaître totalement. Les capitules sont fructifères et les pédoncules sont très grêles et très longs.

Le calicule est linéaire, non ou à peine dilaté à son sommet, quadrangulaire, à 8 nervures très saillantes dont 4 angulaires non ou à peine ciliées, séparées par des sillons étroits et anastomosés 2 à 2 sous la cupule. [Battendier, J.A., 1888-1890 ; Quezel et santa., 1963].



Figure I-5 : *Scabiosa semipapposa* A : inflorescence (Photo prise pendant la récolte), B: morphologie générale [Devesal et al., 2004].

I.1.4.4 Utilisation en médecine traditionnelle

On ne connaît pas d'usage en médecine traditionnelle de l'espèce *Scabiosa semipapposa* Salzm

CHAPITRE 2

Présentation du genre *Tuberaria*

I.2.1 L'ordre des Malvales

L'ordre des Malvales renferme 11 familles et environ 6700 espèces des pays chauds. Les familles principales sont les Malvacées suivies par les Thymeleaceae, les Bixaceae, les Dipterocarpaceae et les Cistaceae [Dupont et Guignard., 2015]. Cette dernière renferme l'espèce *Tuberaria guttata* (L.) Fourr que nous avons travaillée.

I.2.2 Famille des Cistaceae

I.2.2.1 Généralités

La famille des Cistaceae est une petite famille connue par ces beaux arbustes couverts de fleurs (Figure I-6), représentée par environ 170 à 200 espèces réparties entre huit genres : *Cistus*, *Crocanthemum*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea* et *Tuberaria* (*Xolantha*), dont les principaux sont *Helianthemum* et *Cistus* [Bedoya et al., 2009; Guzmán et al., 2009 a]. Le nom Cistaceae a été attribué à cette famille par Joseph Pitton de Tournefort, il provient de celui des cistes (famille des Cistes), un mot grec « **kisthos** » signifiant capsule [Baillon., 1872]. C'est une famille de plantes dicotylédons halophiles, largement représentées dans la zone méditerranéenne [Arrington et Kubitzki., 2003 ; Allen., 2009]. Elles se caractérisent par une adaptation aussi facile aux feux des forêts qui détruisent des vastes zones forestières, car leurs graines résistent aux incendies et se repeuplent rapidement au cours de la saison suivante [Ferrandis et al., 1999]. La plus part des Cistaceae sont très parfumé et ont une odeur douce faisant de cette flore un élément bien appréciable en industrie des parfums et dans les usages ornementaux [Paton et al., 1998].



Figure I-6 : Quelques espèces appartenant à la famille des Cistaceae **A**: *Cistus albidus* L.
B: *Helianthemum apenninum* Mill, **C**: *Fumana arabica* Spach [5].

Les Cistaceae sont principalement localisés dans les régions tempérées de l'ouest de l'Eurasie, de l'Afrique du Nord, de l'Amérique du Nord et du Sud, avec une plus forte concentration dans la région méditerranéenne (Figure I-7) [Brizicky., 1964]. Elles sont annuels ou vivaces [Saenz de Rivas., 1979] et se produisent dans les zones ouvertes sur les sols pauvres.

C'est des plantes qui sont caractéristique des habitats secs et ensoleillés [Proctor., 1978] où les précipitations sont très variables, les sécheresses sont fréquentes et les incendies sont périodiques [Luna et Chamorro., 2016]. La famille des Cistaceae caractérise souvent la végétation qui se développe après perturbation (généralement par le feu) de forêts sclérophylles sempervirentes [Rivas-Martinez., 1979]. Cinq parmi les huit genres (*Cistus*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Tuberaria*) sont distribués principalement dans la région méditerranéenne et largement dispersés en Espagne formant de vastes arbustes et prairies. Quant aux trois autres (*Crocanthemum*, *Hudsonia*, *Lechea*) habitent les régions tempérées en Amérique [Guzmán et Vargas., 2009b].



Figure I-7 : Distribution géographique des Cistaceae [Rivas-Martinez., 1979].

I.2.2.2 Description botanique

Les plantes de la famille des Cistaceae sont des arbustes, arbrisseaux, sous-arbrisseaux ou plantes herbacées pérennes ou annuelles, poilues ou velues, avec un réceptacle en forme de cône surbaissé, portant de bas en haut périlanthe, l'androcée et le gynécée. Ces plantes referment les caractéristiques morphologiques suivantes [Baillon., 1872 ; Herrera., 1992] :

❖ Les feuilles

Les feuilles sont opposées ou alternes, toujours simples et entières, stipulées ou non.

❖ Inflorescence

L'inflorescence est axillaires ou terminales, parfois uniflores, en général cymes diverses, isolées ou groupées par 2-3 ou en panicules ou grappes.

❖ Les fleurs

Les fleurs sont hermaphrodites, régulières, parfois cléistogames Avec un périlanthe double, leur calice (enveloppe extérieure de la fleur) est à trois ou cinq divisions très profondes, leur corolle (enveloppe intérieure de la fleur) à cinq pétales libres très caduques et très délicates, étalées en rose et sessiles, également contournées, mais généralement en sens inverse du calice de trois ou cinq sépales (Figure I-8). Les étamines sont hypogynes, plus ou moins nombreuses, toutes fertiles ou les extérieurs sont stériles et réduites à un filament moniliforme ou non [Brizicky, 1964 ; Raynaud., 1987 Güemes., 1999 ; Arrington et Kubitzki., 2003].

❖ L'Ovaire

L'ovaire est supère glanduleux, rarement uniloculaire, il est constitué de trois à cinq ou dix carpelles soudés. Chaque loge renferme deux ou plusieurs ovules orthotropes, le style est simple à stigmate globuleux ou ramifié.

❖ Le fruit

Le fruit est une capsule globuleuse coriace ou ligneuse enveloppée dans un calice persistant offrant une, trois, cinq à douze loges et s'ouvrant en trois comme chez les hélianthèmes avec cinq ou dix valves. Il renferme de nombreuses graines munies d'un albumen poudreux ou cartilagineux, et d'un embryon courbé ou circiné, avec des cotylédons étroits. Leur nombre est de 500 à 1000 graines par capsule (Figure I-8) [Quezel et santa ., 1963 ; Delgado et al., 2008 ; Guzmán et al., 2009 a].

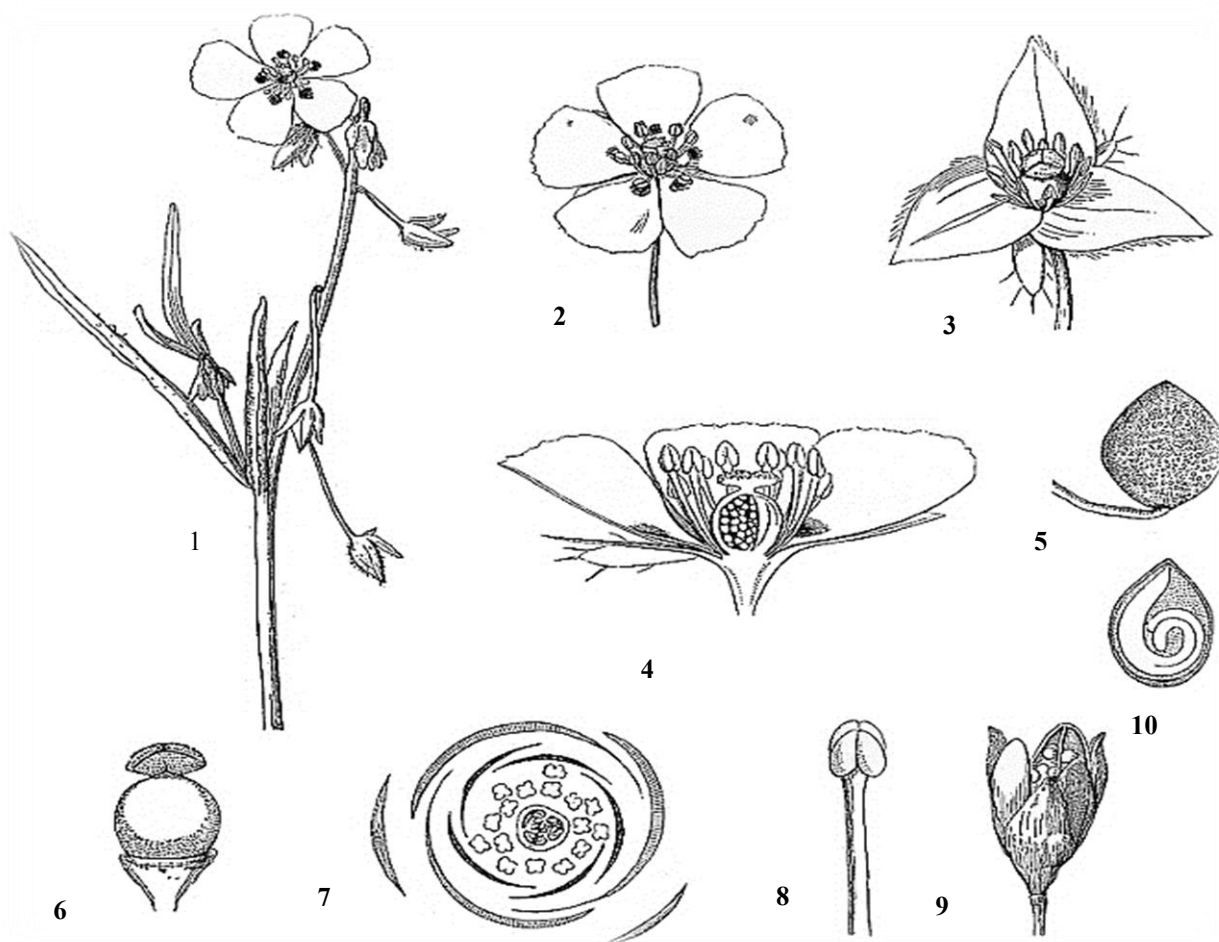


Figure I-8 : Représentation schématique des différents organes de plantes Cistaceae [Le Maout et Decaisne., 1873]. 1. Partie aérienne (*Tuberaria guttata*). 2-9. [Par ordre] Fleur (2), fleur sans corolle (3), coupe verticale de la fleur (4), graine (5), pistil (6), diagramme florale (7), étamine (8), fruit (9) (*Helianthemum*). 10. Coupe verticale d'une graine (*Cistus ladanum*).

I.2.2.3 Position systématique

La famille des Cistaceae a souvent été considérée comme voisine des Vioalaceae. De nombreux reclassements au niveau de l'ordre ont été réalisés (Tableau I-8) : Bixales [Takhtajan., 1987], Violaes [Cronquist .,1988], Malvales [Dahlgren., 1989], Violaes [Thorne., 1992], Cistales [Takhtajan., 1997], et Malvales [Guignard., 2001] (Tableau I-8), suite à des modifications basées sur des critères morphologiques et anatomiques qui se sont avérés complexes. Cependant, des analyses moléculaires récentes basées sur des séquences d'ADN ont permis de classer la famille Cistaceae dans l'ordre des Malvales [Guzmán et al., 2009b ; Byng., 2016].

Tableau I-8 : Position de la famille Cistaceae dans la classification systématique évolutive.

	Takhtajan (1987)	Cronquist (1988)	Dahlgren (1989)	Thorne (1992)	Takhtajan (1997)
Classe	Magnoliopsida	Magnoliopsida (Dicotylédones)	Magnoliopsida		Magnoliopsida
Sous-Classe	Dilleniidae	Dilleniidae	Magnoliidae	Dicotyledoneae (Annonidae)	Dilleniidae
Super-Ordre	Malvanae		Malvanae	Violanae	Malvanae
Ordre	Bixales	Violales	Malvales	Violales	Cistales
Sous-Ordre				Cistineae	
Famille	Cistaceae				

En 2001, **Guignard** a positionné les Cistaceae selon cette hiérarchie (Tableau I-9) :

Tableau I-9 : Position de la famille Cistaceae selon [Guignard., 2001].

Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Aangiospermes
Classe	Eeudicotylidones
Sous-classe	Rosidées
Ordre	Malvales
Famille	Cistaceae

I.2.3 Présentation du genre *Tuberaria* (Dunal) Spach

Ethymologie

Le mot *Tuberaria* vient du mot latin « tuberosus » qui dérive de tuber « tubercule » allusion à la souche épaisse tuber ayant également donné « truffe ». À noter que le terme « tubéreux » a d'abord désigné un membre gonflé avant d'être rapidement limité à la botanique dès 1611[2].

I.2.3.1 Description botanique

Le genre *Tuberaria* compte environ une douzaine d'espèces. Ces plantes sont des herbacées vivaces à cycle court et des plantes annuelles, ce genre se caractérise par :

❖ Le calice

Le calice constitué de cinq sépales persistants dont les deux extérieurs (*épicalice*) sont souvent plus petits que les intérieurs et sans nervures proéminentes.

❖ Les feuilles

Les feuilles basilaires sont opposées, parfois lignifiées, en rosette, non stipulées, fréquemment tri-nerviées ou quintupli-nerviées et parfois marcescentes ou caduques à l'anthèse.

❖ Les fleurs

Les fleurs sont chasmogames, parfois réduites et cleistogames. Les pétales sont de couleur jaune (Figure I-9), au nombre de cinq (très rarement absents), entiers ou irrégulièrement dentelés. Les étamines sont généralement nombreuses et bien érigées, inégales et fertiles. Les anthères ont une forme allongée, globuleuse ou apiculée.

❖ L'ovaire

L'ovaire est constitué de 3 loges incomplètes avec un style redressé, court ou presque nul. Les funicules sont incurvés, robustes et gonflés au centre. Les capsules sont plus courtes que le calice, ovoïde, déhiscente en trois coquilles. Les semences sont ovoïdes, brunes, généralement avec des papilles blanchâtres disposées en rangées ; l'embryon, en général sous-périphérique, doublé par l'hypocotyle ; les cotylédons sont à peine courbés à genouillés [Quezel et santa., 1963 ; Kubitzki., 2003; Castroviejo et al., 2005].



Figure I-9 : Les différentes parties de *Tuberaria lignosa* Samp.

I.2.3.2 Répartition géographique

Le genre *Tuberaria* genre est constitué d'environ 12 espèces de la famille des Cistaceae, originaires de l'Europe occidentale et méridionale (Figure I-10). C'est des plantes qui se produisent sur des sites secs et caillouteux, souvent près de la mer. Neuf espèces ont été reconnues par Gallego (1993) dans la péninsule ibérique, dont l'espèce annuelle *Tuberaria guttata* (L.) Fourr, qui est la plus largement distribué [Bedoya et al., 2009; Trindade., 2012].

Dans le Sud-Est de l'Espagne, ce genre est représenté par *T. lignosa* et six taxon annuels de section Scorpions: *T. inconspicua* et *T. guttata*, sont distribués dans tout le bassin méditerranéen, avec une dernière extension au Macaronesie et la Grande-Bretagne, tandis que les quatre autres espèces (*T. commutata*, *T. brevipes*, *T. macrosepala*, et *T. eehioides*) sont endémiques au centre-Ouest et Sud de la péninsule ibérique et l'Afrique du Nord [Gallego et Aparicio., 1993].



Figure I-10 : Carte géographique de la répartition du genre *Tuberaria* (Dunal) Spach [3].

I.2.3.3 Position systématique :

Le genre *Tuberaria* est classé de la manière suivante (Tableau I-10) selon l'inventaire national du patrimoine naturel (INPN) [4] et la classification de l'APGIII et IV [Birgitta., 2009 ; James et Mark., 2011 ; Byng., 2016].

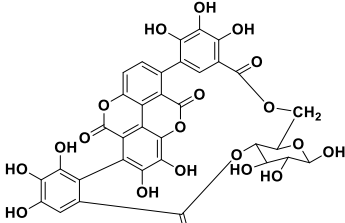
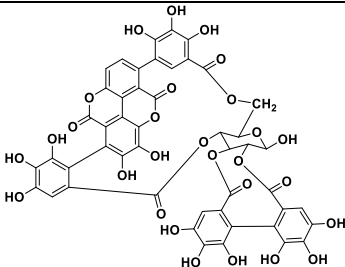
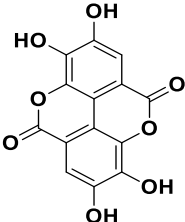
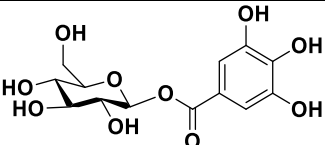
Tableau I-10 : Position systématique du genre *Tuberaria*.

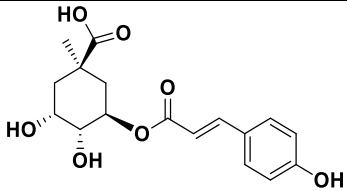
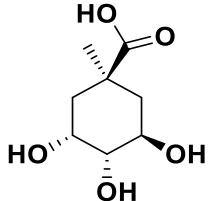
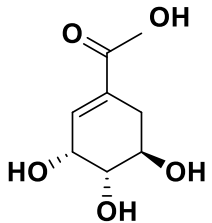
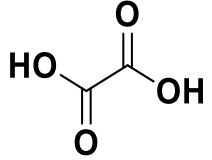
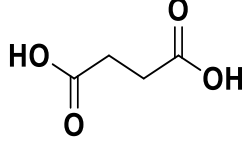
Domaine	Biota	
Règne	Plantae	(Haeckel, 1866)
Sous-Règne	Viridaeplantae	
Infra-Règne	Streptophyta	(John, Williamson & Guiry, 2011)
Classe	Equisetopsida	(C. Agardh, 1825)
Cladus	Tracheophyta	(Sinnott es Cavalier-Smith, 1998)
Cladus	Spermatophyta	
Sous-Classe	Magnoliidae	(Novák ex Takht., 1967)
Super-Ordre	Rosanae	(Takht., 1967)
Ordre	Malvales	(Juss. Ex Bercht. & J. Presl, 1820)
Famille	Cistaceae	(Juss., 1789)
Genre	<i>Tuberaria</i>	(Dunal) Spach, 1836

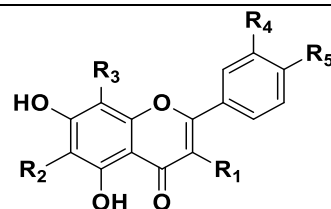
I.2.3.4 Etudes chimiques antérieures du genre *Tuberaria*

Les investigations phytochimiques réalisés sur le genre *Tuberaria* sont vraiment limitées, ciblant exclusivement l'espèce *Tuberaria lignosa*. [Pinela et al., 2012 ; Pinela et al., 2015 ; Pinela et al., 2017]. Les travaux effectués sur cette espèce ont permis d'isoler et identifier 17 composés phénoliques (dérivés des : ellagitannins, acide phénoliques et flavonoïdes) et acides organiques (1-17) (Tableau I-11).

Tableau I-11 : Métabolites isolés à partir de l'espèce *Tuberaria lignosa*.

N°	Nom	Composé	Espèce	Référence
1	Punicaline		<i>T. lignosa</i>	[Pinela et al., 2012] [Pinela et al., 2015] [Pinela et al., 2017]
2	Punicalagine			
3	Acide ellagique			[Pinela et al., 2012] [Pinela et al., 2015] [Pinela et al., 2017]
4	Monogalloylglucose			

5	Acide 5- O-p-Coumaroylquinique			
6	Acide quinique			[Pinela et al., 2017]
7	Acide shikimique			[Pinela et al., 2017]
8	Acide oxalique			
9	Acide succinique			



N°	Nom	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Espèce	référence
10	Apigénine-6- C-glucoside (Isovitexine)	H	Glc	H	H	OH	<i>T. lignosa</i>	[Pinela et al., 2012]
11	Apigénine-8- C-glucoside (Vitexine)	H	H	Glc	H	OH		[Pinela et al., 2015]
12	Apigénine-6-C-glucose-8-C-glucose	H	Glc	Glc	H	OH		[Pinela et al., 2017]
13	Lutéoline-6- C-glucoside	H	Glc	H	OH	OH		
14	Lutéoline-8- C-glucoside (Orientine)	H	H	Glc	OH	OH		[Pinela et al., 2012]
15	Lutéoline-6- C-glucose-8- C-glucose	H	Glc	Glc	OH	OH		[Pinela et al., 2015]
16	Kaempférol-3- O-rutinoside	O- Rha (1→6)Glc	H	H	H	OH		[Pinela et al., 2017]
17	Quercétine-3- O-rutinoside (Rutine)	O- Rha(1→6)Glc	H	H	OH	OH		

I.2.3.5 Utilisation en médecine traditionnelle

L'espèce *Tuberaria lignosa* (Sweet) Samp est l'une des plantes médicinales les plus citées dans la région du Nord-Est du Portugal où elle est populairement connue sous le nom de "alcária" ou "erva-loba" [Carvalho., 2010].

En médecine populaire traditionnelle, les différentes parties (racines et parties aériennes) de cette espèce sont utilisées pour le traitement de diverses maladies et affections, telles que les troubles gastro-intestinaux, les brûlures d'estomac, les blessures, la grippe, les infections cutanées et les verrues, grâce aux propriétés vulnérinaires, anti-inflammatoires, anti-infectieux, antiseptiques et cicatrisantes qu'elle renferme. [Martín-Aragón et al., 1994 ; Novais et al., 2004 ; Carvalho., 2010 ; Bedoya et al., 2010].

En médecine vétérinaire les espèces de *Tuberaria* sont utilisées comme des plantes alimentaires pour nourrir les larves de certaines espèces de lépidoptères [Bedoya et al., 2009]. L'espèce *Tuberaria lignosa* est connu aussi pour son utilisation comme traitement des traumatismes et des affections du tractus gastro-intestinales chez les équidés (cheval, âne et mule) ainsi comme traitement des blessures et entorses, en particulier dans les sous-régions centrales et le littoral de Alentejo (Portugal) [Farinha et al., 2012].

I-2.3.6 Quelques activités biologiques du genre *Tuberaria*

Très peu d'investigations biologiques ont été réalisées sur les espèces du genre *Tuberaria*. Ces d'études ont ciblé encore l'espèce *T.lignosa* et qui ont permis de mettre en évidence différentes activités pharmacologiques lié à cette espèce, citons par exemple : l'activité antivirale (anti-VIH) [Bedoya et al., 2001,2010] et (anti VHS-1) [Abad et al., 1997] , anti-inflammatoire et anti-ulcérogène [Alvarez et al., 1990 ;Martín-Aragón et al., 1994] , antioxydante [Pinela et al., 2015] , antitumorale (antiapoptotique) [Pereira et al., 2016].

I.2.3.7 Importance écologique du genre *Tuberaria*

Certains espèce du genre *Tuberaria* peuvent présenter des associations symbiotiques mycorhiziennes avec les truffes (*Terfez* et *Tuber*) tandis que beaucoup de ces espèces jouent un rôle important en tant que plantes pionnières dans les zones perturbées et la stabilisation des sols contre l'érosion [Trappe., 1979; Trappe et al., 2008 ; Loizides et al., 2012 ;Kovács et Trappe., 2014].

En Maroc dans les terrains sablonneux de la Maamora, sont rencontrées les truffes *Terfezia leonis* Tul. qui forment une association mycorhizienne avec l'espèce *Tuberaria guttata* (L.) Fourr., « *oum-tterfas, dial tterfas, gerga'ejjemel* » [Bellakhdar., 1997].

Bien que l'étude menée par Herrera en 2004 à nier l'existence d'une association fongique avec cette espèce, les investigations récentes [Loizides., 2016], notamment celle réalisé au nord- est de l'Algérie en 2017 [Dafri et Beddiar., 2017], ont prouvé que l'espèce *T. guttata*, est une hôte pour les truffes de désert ; *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe (Figure I-11). vivent dans un sol sablo-limoneux acide caractérisé par une forte distribution de *Tuberaria guttata*, d'où elle est nommé « *oum E'terfess* » [Quezel et santa., 1963].



Figure I-11 : Association symbiotique entre *Tuberaria* et *Terfezia arenaria* [Bordallo., 2018].

I.2.3 L'espèce *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau

I.2.3.1 Position systématique

Selon la classification de l'APG III [Birgitta., 2009] L'espèce *T. guttata* (L.) Fourr, est classé de la manière suivante :

Clade	Plantae
Clade	Spermatophytes
Clade	Angiospermes
Clade	Eudicotylidones
Clade	Dicotylidones vraies superieures
Clade	Rodidees
Ordre	Malvales
Famille	Cistaceae
Genre	<i>Tuberaria</i>
Espèce	<i>Tuberaria guttata</i>

I.2.3.2 Description botanique

Tuberaria guttata appelée aussi *Hélianthème* taché est aussi charmant que discret et facile à reconnaître même si ses taches de taille très variable sont parfois absentes. Comme déjà décrit le mot *Tuberaria* est du latin «tuberosus, tubercule = truffe» et l'épithète *guttata* signifie « marqué d'une goutte taché». L'espèce *Tuberaria guttata* appartient à la section SCORPIOIDES Willk. C'est une herbe annuelle en érection ou diffuse (2 à 30 cm de haut), avec des tiges pileuses simples ou ramifiées (Figure I-12).

❖ Les feuilles

Les feuilles sont opposées (basiques) elliptiques, exstipulé, sessile, elliptiques à lancéolées ou alternent (supérieure), plus courts et plus étroits, lancéolées à linéaire avec des stipules linéaires remarquables, ou absents .Les feuilles sont pileux, et avec des poils stellaires dispersés en particulier en dessous (Figure I-12).

❖ Inflorescences

Inflorescences est en cymes laxistes, avec bractées allongé ou lancéolées, ou carrément absents. La corolle est formé de 5 pétales .Les fleurs sont jaune pâle, généralement avec une tache rouge foncé à la base avec environ 20 Étamines, plus court que légèrement dépasse le stigmate. Les stigmates sont sessiles, capitulaires, avec de longues papilles. Le calice est formé de 5 sépales dont trois intérieurs ovales, pileux, accrescents et persistant pour enfermer la capsule mûre(Figure I-12).

❖ Fruit

Le fruit est une capsule ovoïde, carrément trigone dans la section, sous- glabre, ou peu poilue, plus courte que les sépales avec beaucoup de Graines(Figure I-12) [Proctor., 1960 ; Quezel et santa., 1963].

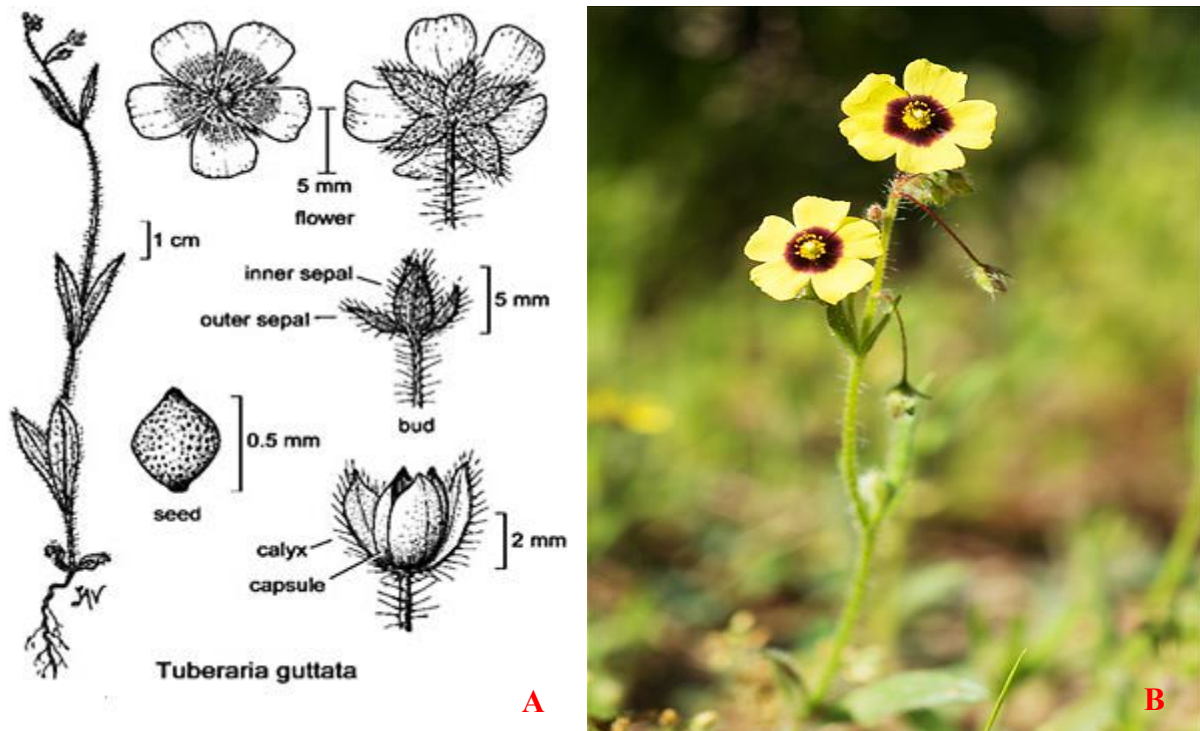


Figure I-12 : *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau ; A (différents organes), B. [3], [6].

I.2.3.3 Distribution géographique

L'espèce *Tuberaria guttata* est abondante dans la région méditerranéenne, s'étendant du Portugal et de l'Espagne aux Balkans, à l'Asie Mineure, à la Syrie et à Palestine et en Afrique du Nord de la Tunisie au Maroc et aux îles Canaries. Atteint aussi le nord de la France, les îles britanniques, la côte de la Hollande de Bakkum à Helder, Texel, Vlieland, Terschelling, dans Juist elle est introduite, Norderney et des localités isolées dans le centre et l'ouest de l'Allemagne. Elle est abondante dans les contreforts de la Sierra Nevada dans le comté d'Amador, et la Californie. Cette espèce est très rare en Grande-Bretagne, mais parfois abondante dans des zones restreintes. Au niveau proche de la mer à Anglesey, c'est une plante de la plaine en France et en Allemagne, est plaine et sous-montagnard en région méditerranéenne : atteint environ 1000 m au Portugal, et 1300 m aux Canaries. Elle est localisée aussi dans quelques îles en Irlande et sur la côte sud d'Aurigny (Île anglo-normande) (Figure I-13) [Proctor., 1960].



Figure I-13 : Limites approximatives de la distribution mondiale *Tuberaria guttata* (L.) Fourr. , (Van Steenis (1925) montre l'aire de répartition nord-africaine s'étendant vers l'est jusqu'à la Tripolitaine.) [Proctor., 1960].

I.2.3.4 Utilisation en médecine traditionnelle

On ne connaît pas d'usage en médecine traditionnelle de *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau.

-A-

- Abad, M.J., Bermejo, P., Villar, A., Sanchez, S., Carrasco, L. (1997).** Antiviral activity of medicinal plant extracts. *Phytotherapy Research*.11, 198-202.
- Addisonia (1954-1959)** .Colored Illustrations and Popular Descriptions of Plants Volume 23
New York Botanical Garden.
- Agelet, A., Valles, J. (2001).**Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). Part I. General results and new or very rare medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*.77, 57–70.
- Aidi Wannas,W. ,Marzouk,B. (2016).** Research progress of Tunisian medicinal plants used for acute diabetes .Review article *Journal of Acute Disease*.5 (5), 357-363.
- Akimaliev, A., Alimaeva, P. K., Mzhel'skaya, L. G., Abubakirov, N.K. (1976) a.** Triterpene glycosides of *Scabiosa soongorica* II. The structure of songorosides C, G and I. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*. 4, 472-476.
- Akimaliev, A., Puteiva, Z.M., Alimaeva, P. K., Abubakirov, N.K. (1988).** Triterpene glycosides of *Scabiosa soongorica* V. β -sitosterol β -D-glucopyranoside and songoroside A. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*.6, 885-886.
- Akimaliev,A., Alimaeva, P. K., Mzhel'skaya, L. G., Abubakirov, N.K.(1976)b.** Triterpène glycosides of *Scabiosa soongorica* III. The structure of songorosides M and O. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*. 476-479.
- Allen, H., (2009).** Vegetation and ecosystem dynamics.in Woodward, J.C. (Ed.) The physical geography of the Mediterranean. Oxford, *Oxford University Press*. 203–227.
- Al-Qudah, M.A., Otoom, N.K., Al-Jaber H.I., Saleh, A.M., Abu Zarga, M.H., Afifi, F.U., Abu Orabi, S.T. (2017).** New flavonol glycoside from *Scabiosa prolifera* L. aerial parts with invitro antioxidant and cytotoxic activities. *Natural Product Research*. 31(24), 2865-2874.
- Alvarez, P., Benedí, J., Coma, I., Iglesias, I., Rebuelta, M., Villar, A. (1990).** PI. Medecine et Phytotherapie. 24, 92-97.
- Arrington, JM., Kubitzki, K., (2003).** Cistaceae. In : Kubitzki K, Bayer C (eds) The families and genera of vascular plants. Malvales, Capparales and non-betalain Caryophyllales, *Springer Berlin*.5, 68.

-B-

- Baillon, H., (1872).** Histoire des plantes, Monographie des Bixacées : Cistacées et Violacées. *Librairie Hachette, Paris.*
- Baillon, H. (1880).** Histoire des plantes volume 7 Paris-France. 519-521.
- Bammi, J., Douira, A. (2002),** Medicinal plants of the achach forest in Morocco. *Acta Botanica Malacitana.* 27, 131-145.
- Battandier, J.A. (1888-1890).** Flore de l'Algérie. Ancienne "Flore d'Alger" transformée, contenant la description de toutes les plantes signalées jusqu'à ce jour comme spontanées en Algérie, par Battandier et Trabut, ... Dicotylédones, par J.-A. Battandier.
- Baykal, T., Panayir, T., Tasdemir, D., Sticher, O., Calis I. (1998).** Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. *Phytochemistry.* 48, 867- 873.
- Bedoya, L.M., Abad, M.J., Sánchez-Palomino, S., Alcami, J., Bermejo, P. (2010).** Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV. *Phytomedicine.* 17, 69–74.
- Bedoya, L.M., Bermejo, P., Abad, M.J., (2009).** Anti-Infectious Activity in the Cistaceae Family in the Iberian Peninsula. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 9, 519-525.
- Bedoya, L.M., Sanchez, S., Abad, M.J., Bermejo, P., Alcami, J. (2001).** Anti-HIV activity of medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology.* 77, 113-6.
- Bellakhdar, J., (1997) .** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au maroc :La Situation Actuelle, Les Produits, Les sources du savoir enquête ethnopharmacologique du terrain réalisée de 1969 au 1992 Tome I.
- Besbes, M., Omri, A., Cheraif, I., Daami, M., Ben Jannet, H., Mastouri, M., Aouni, M., Selmi, B. (2012).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Scabiosa arenaria* Forsk. Growing Wild in Tunisia. *Chemistry and biodiversity.* 9, 829-839.
- Birgitta, B., et son groupe de chercheurs. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III, *Botanical Journal of the Linnean Society.* 161, 105–121.
- Bordallo, J.J., Rodríguez, A., Santos-Silva, C., Louro, R., Muñoz-Mohedano, J., Morte, A.** *Terfezia lusitanica*, a new mycorrhizal species associated to *Tuberaria guttata* (Cistaceae). *Phytotaxa.* 357 (2), 141–147.
- Bonet, M.A, Parada, M., Selga, A., Valles, J. (1999).** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'Alt Empordà and Les Guilleries (Catalonia, Iberian Peninsula) *Journal of Ethnopharmacology .* 68, 145–168.

- Bonet, M.A., Valles, J. (2007).** Ethnobotany of Montseny biosphere reserve (Catalonia, Iberian Peninsula): Plants used in veterinary medicine *Journal of Ethnopharmacology*.110, 130–147.
- Brizicky, G.K. (1964).**The Genera of Cistaceae in the Southeastern United States *Journal of the Arnold Arboretum*. 45(3), 346-357.
- Bussmanna, R.W., Malca-García, G., Glenna, A., Sharon, D. Chait,G ., Díaz, D.,Pourmand, K., Jonat,B., Somogy,S., Guardado,G., Aguirre,C., Chan,R., Meyer,K., Kuhlman,A., Christopoulou, C., Graikou, K., Chinou, I., (2008).** Chemosystematic value of chemical constituents from *Scabiosa hymettia* (Dipsacaceae). *Chemistry and Biodiversity*5, 318-323.
- Bussmanna, R.W., Malca-García, G., Glenna, A., Sharon, D . Chait,G ., Díaz, D.,Pourmand, K., Jonat,B., Somogy,S., Guardado,G., Aguirre,C., Chan,R., Meyer,K., Kuhlman,A., Townesmith,A., Effio-Carbajal,J., Frías-Fernandez,F., Benito ,M.(2010).** Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru asantibacterial remedies *Journal of Ethnopharmacology* .132, 101–108.
- Bussmann, R .W. , Sharon ,D.(2015).** Medicinal plants of the Andes and the Amazon. The magic and medicinal flora of Northern Peru.
- Byng, J.W., et son groupe de chercheurs. (2016).**An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV *Botanical Journal of the Linnean Society*.181, 1–20.
- C-
- Carlson, S.E., Linder, H.P., and Donoghue, M J. (2012) .**The historical biogeography of *Scabiosa* (Dipsacaceae): implications for Old World plant disjunctions *.Journal of Biogeography* 39, 1086–1100.
- Carvalho, A.M. (2010).** Plantas y sabiduría popular del Parque Natural de Montesinho. UN estudio etnobotánico en Portugal. Biblioteca de Ciencias nº 35. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid.
- Castroviejo, S., Aedo, C., Cirujano, S., Laínz, M., Montserrat, P., Morales, R., Muños Garmendia,F.,Navarro,C., Raiva,J.,Soriano,C.(2.eds).(2005).** Plantas vasculares de la Péninsula Ibérica eIslasBaleares vol III Plumbaginaceae (patrim)-Caparaceae.
- Chase, M.W., Reveal, J.L.(2009).** A Phylogenetic Classification of the Land Plants to Accompany APG III *.Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 122–127.
- Chinese Pharmacopoeia Committee. (1998).**Drug Standards of Ministry of Public Health of China (Mongolian medicine Fascicule); *Chemical Industry Press*: Beijing, China.

- Chorfi, A., Ziriati, A., Bagot, A., Boulé, S. (2012).** Illustrated Guide of the Algerian Flora. Wilaya d'Alger, Mairie de Paris, Délégation Générale aux Relations Internationales, Paris.
- Christopoulou, C., Graikou, K., Chinou, I., (2008).** Chemosystematic value of chemical constituents from *Scabiosa hymettia* (Dipsacaceae). *Chemistry and Biodiversity*. 5, 318-323.
- Cronquist, A. (1981).** An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York. 248-250.
- Cronquist, A., (1988).** The evolution and classification of flowering plants. *New York Botanical Garden*, Bronx, NY.

-D-

- Dafri, A., Beddiar, A. (2017).** Desert truffles from northeastern Algerian coastal dunes: Ecology, Identification and Symbiosis. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 9(1), 153–169.
- Dahlgren, G. (1989).** The last Dahlgrenogram: system of classification of the Dicotyledons. In: Tan, K., Mill, R.R., Elias, T.S. (Eds.), *Plant Taxonomy, Phytogeography and Related Subjects*. Edinburgh University, Edinburgh, pp. 249–260.
- Delgado, J.A., Serrano, J.M., Lopez, F., Acosta, F.J., (2008).** Seed size and seed germination in the Mediterranean fire-prone shrub *Cistus ladanifer*. *Plant Ecology*. 197, 269-276.
- Devesal, J.A., Ortega-Olivencia, A., Lopez, J. (2004).** *Scabiosa galianoi* Devesa, Ortega-Olivencia & J. Lopez, a new name for *S. gracilis* (Boiss.) Boiss. (Dipsacaceae). *Taxon* 53 (1), 173-175.
- Dupont, F., Guignard, J.L. (2015).** Abrégés de pharmacie Botanique Les familles de plantes 16e édition Elsevier Masson.

-F-

- Farinha, N., Póvoa, O., and Santos, R., (2012).** Ethnoveterinary applied to Equidae in the Alentejo, south Portugal. *Forages and Grazing horse Nutrition*. 132, 401-412.
- Ferrandis, P., Herrantz, J.M., Martínez-Sánchez, J.J., (1999).** Effect of fire on hard-coated Cistaceae seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecology*. 144, 103-114.

-G-

- Gallego, M. J., Aparicio, A. (1993).** Karyological Study In The Genus *Tuberaria* sect. Scorpioides (Cistaceae) *Plant Systematics and Evolution*. 184, 11-25.

- Garaev, E. A., Movsumov, I.S., Isaev, M.I. (2008).** Flavonoids and oleanolic acid from *Scabiosa caucasica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 44 (4), 520-521.
- Grierson, D.S., Afolayan, A.J. (1999).** An ethnobotanical study of plants used for the treatment of wounds in the Eastern Cape, South Africa *Journal of Ethnopharmacology*.67, 327–332.
- Güemes, J. (1999).** A new species of *Fumana* (Cistaceae) from Rif Morocco. *Folia Geobotanica.*, 34, 363-372.
- Guignard, J.L. (2001).** Botanique. Systématique moléculaire. Ed. Masson (12ème édition), Paris.
- Guzmán, B., Vargas, P., (2009) a.** Long-distance colonization of the Western Mediterranean by *Cistus ladanifer* (Cistaceae) despite the absence of special dispersal mechanisms. *Journal of Biogeography*.36, 954-968.
- Guzmán, B., Vargas, P., (2009) b.** Historical biogeography and character evolution of Cistaceae (Malvales) based on analysis of plastid rbcL and trnL-trnF sequences. *Organisms Diversity and Evolution*. 9, 83–99.
- H-**
- Herrera, J. (2004).** Lifetime fecundity and floral variation in *Tuberaria guttata* (Cistaceae), a Mediterranean annual. *Plant Ecology*, 172, 219–225.
- Herrera, J., (1992).** Flower variation and breeding systems in the Cistaceae. P1. *Syst. Evol.* 179,245-255.
- Hlila ,M.B, Mosbah,H., Majouli,K., Mssada,K., Ben Jannete,H., Aounia,M., Selmi,B.(2015b).** α Glucosidase inhibition by Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. Extracts *International Journal of Biological Macromolecules* .77, 383–389.
- Hlila, M.B., Omri,A., Ben Jannet, H., Lamari,A., Aouni,M., Selmi,B.(2013).** Phenolic composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of the Tunisian *Scabiosa arenaria* .*Pharmceutical Biology*. 51(5), 525–532.
- Hlila, M.B., Omri,A., Ben Jannet, H., Lamari,A., Aouni,M., Selmi,B.(2015a).** Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of roots extracts from the Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk Malek Besbes *Industrial Crops and Products*. 67, 62–69.
- Hlila,M.B., Mosbah,H., Zanina,N., Ben Nejmad,A., Ben Jannetd,H., Aounia,M., Selmi,B. (2016)** .Characterisation of phenolic antioxidants in *Scabiosa arenaria* flowers by LC–ESI-MS/MS and NMR *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 68, 932–940.

Horn, M.M., Drewes, S.E., Brown, N.J., Munro, O.Q., Marion Meyer, J.J., Mathekga, A-D.M.(2001). Transformation of naturally-occurring 1, 9-trans-9,5-cis sweroside to all trans sweroside during acetylation of sweroside aglycone. *Phytochemistry*.57, 51-56.

-J-

James, L.R., Mark, W.C. (2011). APG III: Bibliographical Information and Synonymy of Magnoliidae. *Phytotaxa*. 19, 71-134.

Judd, W. S., Campbell, C.S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. Donoghue, M. J. (2007). Plant Systematics_ A Phylogenetic Approach, Third Edition-Sinauer Associates.

-K-

Kahouadji, M.S. (1995)- Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Maroc oriental. Thèse de troisième cycle. Université Mohammed I. faculté des sciences.

Kılınc, H., Masullo, M., D'Urso, G., Karayildirim, T., Alankus, O., Piacente, S. (2020). Phytochemical investigation of *Scabiosa sicula* guided by a preliminary HPLC-ESIMSⁿ profiling. *Phytochemistry*.174, 112350.

Kose , L.S., Moteetee ,A., Vuuren,S.V. (2015) .Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Maseru district of Lesotho. *Journal of Ethnopharmacology*.170, 184-200.

Kovács, G., Trappe, J. (2014). Nomenclatural history and genealogies of desert truffles. Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds). Desert truffles — phylogeny, physiology, distribution and domestication. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.21–37.

-L-

Lamarck, J.L., Poiret, M., (1804). Encyclopédie méthodique, botanique. Volume 6. Paris-France.

Le Maout, E., Decaisne, J. (1873). A general system of botany, descriptive and analytical. Part II. Description and illustrations of the orders.

Lebreton, E.(2014). Plantes À Usage Cutané Chez L'enfant .Sciences pharmaceutiques. Dumas 00996816.

Lehbili ,M., Alabdul Magid ,A, Jane Hubert, Kabouche,A., Voutquenne-Nazabadioko ,L., Renault,J.H.,Nuzillard,J.M., Morjani ,H., Abedinib,A., Gangloff ,S.C.,Kabouche,Z. (2018)b. Two new bis-iridoids isolated from *Scabiosa stellata* and their antibacterial, antioxidant, anti-tyrosinase and cytotoxic activities. *Fitoterapia* .125, 41–48.

- Lehbili ,M., Alabdul Magid ,A, Kabouche ,A., Voutquenne-Nazabadioko ,L., Morjani ,H., Harakat, D.,Kabouche,Z. (2018)a.** Triterpenoid saponins from *Scabiosa stellata* collected in North-eastern Algeria *Phytochemistry*. 150, 40-49.
- Loizides, M. (2016).**Macromycetes within Cistaceae-dominated ecosystems in Cyprus *Mycotaxon*.131, 255–256.
- Loizides, M., Hobart, C., Konstandinides, G., Yiangou, Y. (2012).** Desert Truffles: The mysterious jewels of antiquity. *Field Mycology*.13 (1), 17–21.
- Luna, B., Chamorro, D. (2016).** Germination sensitivity to water stress of eight Cistaceae species from the Western Mediterranean. *Seed. Science Research*. 1-10.

-M-

- Ma, J.N., Bolraa,S., Ji,K., He,Q.Q., Ma,C.M, . (2016).**Quantification and antioxidant and anti-HCV activities of the constituents from the inflorescences of *Scabiosa comosa* and *S. tschilliensis* Short Communication. *Natural Product Research*.30, 590–594.
- Martín-Aragón, S., Benedí, J., & Villar, A., (1994).** Studies on the anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Tuberaria lignosa* extracts in experimental animals. *International Journal of Pharmacognosy*.32, 27-32.
- Masclef, A. (1891).** Atlas des plantes de la France. Librairie des sciences naturelles-Paul Klincksiek, Paris.

-N-

- Novais, M.H., Santos, I., Mendes, S., & Pinto-Gomes, C., (2004).** Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*.93, 183-195.

-P-

- Pereira, J.M., Lopes-Rodrigues, V., Xavier, C. P. R., Lima, M.J., Lima, R.T., Ferreira, I. C. F. R., Vasconcelos, M.H. (2016).** An Aqueous Extract of *Tuberaria lignosa* Inhibits Cell Growth, Alters the Cell Cycle Profile, and Induces Apoptosis of NCI-H460 Tumor Cells. *Molecules*. 21, 595.
- Papalexandrou, A., Magiatis, P., Perdetzoglou, D., Skaltsounis, A.L., Chinou, I.B., Harvala, C., (2003).** Iridoids from *Scabiosa variifolia* (Dipsacaceae) growing in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology* .31, 91-93.
- Paton, D., Nuñez-Trujillo, J., Muñoz, A., Tovar, J., (1998).** Prediction of browsing biomass of five shrub species of genus *Cistus* from Monfragüe Natural Park using multiple regressions. *Arch. Zootec*. 47, 95–105.

- Perdetzoglou, D., Skaltsa, H., Tzakou, O., Harvala, C., (1994).** Comparative phytochemical and morphological study of two species of the *Scabiosa* L. genus. *Feddes Repertorium*, Berlin.1053 (4), 157-165.
- Pinela, J., Antonio, A.L., Barros, L., Barreira, J.C.M., Carvalho, A.M., Oliveira, M.B.P.P., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R. (2015).** Combined effects of gamma-irradiation and preparation method on antioxidant activity and phenolic composition of *Tuberaria lignosa*. *Royal Society of Chemistry Advances*. 5, 14756–14767.
- Pinela, J., Barros, L., Duenas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R, (2012).** Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*.135, 1028–1035.
- Pinela, J., Prieto, M.A., Antonio, A.L., Carvalho, A.M., Oliveira, M.B P.P., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. (2017).** Ellagitannin-rich bioactive extracts of *Tuberaria lignosa* : Insights into the 2radiation-induced effects in the recovery of high added-value compound, *Food and Function* . *Royal society of chemistry*.8, 175.
- Polat, E., Alankus-Caliskan, Ö., Karayildirim T., Bedir, E., (2010).** Iridoids from *Scabiosa atropurpurea* L. subsp. *maritima* Arc. (L.). *Biochemical Systematics and Ecology*. 38,253-255.
- Proctor, M. C. F. (1978).** Cistaceae, Flowering plants of the world: Heywood, V.H. Oxford University Press, Oxford. 108-109.
- Proctor, M. C. F. (1960).** *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau (*Helianthemum guttatum* (L.) Mill.) *Journal of Ecology*.48, 243-253.
- Q-**
- Quezel et santa (1963).**Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome 2 C.N.R.S. Paris.
- R-**
- Rahmouni, N., Pinto, D.C.G.A., Santos, S.A.O., Beghidja, N., Silva, A.M.S. (2017).** Lipophilic composition of *Scabiosa stellata* L: an under explored plant from Batna (Algeria). *Chemical Papers*. 72(3), 753-762.
- Raynaud, C. (1987).** *Atlanthemum* Raynaud, un nouveau genre pour la famille des Cistaceae. *Anales Jard. Bot. Madrid.*, 44 (2), 309-317.
- Rigat, M., Bonet, M.A., Garcia, S., Garnatje, T., Valles, J. (2007).** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the high river Ter valley (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula), *Journal of Ethnopharmacol*.113, 267–277.

Rivas-Martinez, S. (1979). Brezales y jarales de Europa occidental. - Lazaroa. 1, 5-1.

-S-

Sáenz de Rivas, C. (1979). Pollen morphology of Spanish Cistaceae, *Grana*. 18 (2), 91-98.

Spichiger, R. E., Savolainen, V.V., Gignat .M., Jeanmonod, D. (2004). Botanique systematique des plantes à fleurs une approche phylogénique nouvelle des angiosperme des régions tempérées et tropicales. Troisième édition revue et corrigée.

-T-

Takhtajan, A. (1987). Systema Magnoliophytorum. Leningrad: Nauka. Leningrad.

Takhtajan, A. (1997). Diversity and Classification of Flowering Plants, 2nd ed. Columbia University Press, New York. P 663.

Thorne, R.F. (1992). An updated phylogenetic classification of the flowering plants. *Aliso* 13, 365–389.

Townesmith, A., Effio-Carbajal,J., Frías-Fernandez,F., Benito ,M.(2010). Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru asantibacterial remedies *Journal of Ethnopharmacology* .132, 101–108.

Trappe, J. (1979). The orders, families and genera of *Hypogeous Ascomycotina* (truffles and their relatives). *Mycotaxon*.9, 297–340.

Trappe, J., Claridge, A., Arora, Smit, A. (2008). Desert Truffles of the African Kalahari: Ecology, Ethnomycology and Taxonomy. *Economic Botany*.62 (3), 521–529.

Trindade, H., Sena, I., Gonçalves, S, Romano, A. (2012). Genetic diversity of wild populations of *Tuberaria major* (Cistaceae), an endangered species endemic to the Algarve region (Portugal), using ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*. 45, 49–56.

-V-

Van Vuuren, S.F. , Naidoo, D. (2010).An antimicrobial investigation of plants used traditionally in southern Africa to treat sexually transmitted infections. *Journal of Ethnopharmacology*. 130,552–558.

-W-

Wang, J.Y., Zhao, Z.L., Xue, P.F., Ma, F.X., Zhang, D.Y., Wang, N.N., Li, M.H., (2015).Chemical constituents from flowres of *Scabiosa tschiliensis*. *China Journal of Chinese Materia Medica*.40 (5), 807-813. Article en chinois.

Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G., (1962). The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. Livingstone, Edinburgh.

-Z-

- Zemtsova, G. N. , Bandyukova, V. A.(1977).** C-glycosides of species of Dipsacaceae III. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii.* 5, 705-706.
- Zheng, Q., Koike, K., Han, L.K., Okuda, H., Nikaido, T. (2004).** New biologically activetriterpenoid saponins from *Scabiosa tschiliensis*. *Journal of Natural Products* .67, 604-613.
- Zhunusova, M. A., Suleimen, E. M., Iskakova, Z. B., Ishmuratova, M. Y., Abdullabekova, R.M. (2017).** Constituent composition and biological activity of CO₂-extracts of *Scabiosa isetensis* and *S. ochroleuca*. *Chemistry of Natural Compounds.* 53 (4), 775-777.
- [1] <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/> consulté le **07/02/2021**.
- [2] <http://www.plante-mediterraneenne.fr/genres/tuberaria/> consulté le **09/01/2020**.
- [3] **Base de données des plantes d'Afrique CJB.**
; <https://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/index.php?langue=fr> consulté le 09/01/2020
- [4] Inventaire national du patrimoine naturel (INPN) :
https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/127901/tab/taxo consulté le **09/01/2020**.
- [5] **Base de données GBIF** (the Global Biodiversity Information Facility)
<https://www.gbif.org/species/search> consulté le **12/01/2020**.
- [6] The Jepson Herbarium. Jepson eFlora, <https://ucjeps.berkeley.edu/eflora> consulté le **19/02/2021**.

PARTIE II

Matériel et Méthodes

II.1 Matériel végétal

L'identification botanique des plantes étudiées a été réalisée par Mr Kamel Kabouche. Un échantillon de chaque plante a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques pour l'espèce *Scabiosa semipapposa* (LOST Ss.05/17) et (LOST T.g.06/17) pour l'espèce pour l'espèce *Tuberaria guttata*.

Scabiosa semipapposa Salzm Ex D.C

La plante entière *Scabiosa semipapposa* Salzm Ex D.C. a été récoltée au mois de Mai 2017 (stade de la floraison) dans la région de El gammas (Constantine). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, 1k g des racines et 700 g des parties aériennes pulvérisées ont été obtenus.

Tuberaria guttata (L.) Fourreau

Les parties aériennes de la plante *Tuberaria guttata* (L.) Four ont été récoltées le mois de Juin 2017 (stade de la floraison) dans la région de Djebel El Ouahch (Constantine) séchées et broyées de la même manière que la première plante pour donner 1 Kg de la poudre fine.

II.2 Méthodes chromatographiques

II.2.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

C'est une méthode analytique utilisée dans chaque étape de fractionnement, permet le suivi et le contrôle des profils de fractionnement et de purification, la présence et la pureté des produits isolés. Deux types de plaques prêtes à l'emploi ont été utilisés comme phase stationnaire :

-Plaques de silice normale (silice 60 F254, Merck, phase normale) avec un support en aluminium.

-Plaques de silice greffée C₁₈ (Silicagel 60 RP-18 F254S, Merck, phase inverse) avec un support en aluminium.

Le dépôt des échantillons a été réalisé avec un capillaire et le développement a été effectué dans des cuves en verre saturées avec des systèmes solvants (éluant) adaptés constitué d'un mélange de solvant binaire ou tertiaire choisi selon la fraction à étudier et le type de plaque utilisé.

Plusieurs systèmes ont été utilisés dans notre étude :

CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O :70/30/5, 68/32/7. (v/v)	} Phase normale
CHCl ₃ /MeOH: 70/20,75/25, 80/20, 85/15. (v/v)	
AcOEt/ MeOH/H ₂ O: 100/10/10, 100/10/5. (v/v)	
CHCl ₃ /Me ₂ CO:8/2.	
MeOH/H ₂ O: 70/30, 80/20. (v/v) }	Phase inverse

Après développement, l'observation des CCM est effectuée sous la lumière UV (lampe Vilber Lourmat VL-6.MC) à 254 et 366 nm, avant la révélation avec un révélateur préparé au laboratoire constitué de : H_2SO_4 -96%/ H_2O 50/50 ou une solution de la vanilline sulfurique à 5g/l dans l'éthanol dans une chambre de dérivation Camag® TLC spray suivi par un séchage avec un décapeur thermique. Cela permet de rassembler judicieusement les fractions récoltées suite aux différentes séparations chromatographiques.

II.2.2 La chromatographie liquide sous vide (CLV)

C'est une technique chromatographique utilisée pour un fractionnement grossier et rapide des extraits à l'avantage d'être rapide et consomme moins de solvants comparativement aux méthodes chromatographiques classiques. La silice greffée Lichroprep RP-18 Merck (40-63 μm), est mise dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté N° 3. Ce dernier est fixé sur une fiole à vide dans laquelle les fractions sont rassemblées par application du vide à l'aide d'une pompe (Figure II-1).

L'échantillon est déposé à la surface de la phase stationnaire puis une élution est effectuée par un gradient de (70 :30-0 :100) $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$.



Figure II-1 : Un montage de CLV.

II.2.3 La chromatographie sur colonne ouverte (CC)

Pour les chromatographies sur colonnes ouvertes, deux types de phases ont été mises en œuvre

- une silice Kieselgel Merck (70-230 mesh).
- Sur polyamide SC6.

La quantité de silice utilisée est généralement 30 à 40 fois supérieure à la quantité d'échantillon déposée. Les fractions recueillies sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

II.2.4 La chromatographie Flash (CF)

La Flash chromatographie est une méthode chromatographique préparative rapide à moyenne pression exercée sur des colonnes utilisant un système solvant avec un débit élevé accélérant la séparation. L'appareil utilisé est un GRACE Reveleris[®] 5 (Figure II-2) muni d'un détecteur DEDL (Détecteur évaporatif à diffusion de Lumière), d'une vanne de purge pour la ligne DEDL (isopropanol) et d'une vanne de purge pour les 4 lignes de solvant.

Le déroulement de la manipulation est suivi grâce à l'écran associé, le tout est piloté par le logiciel Reveleris[®] Flash System. La collecte des fractions est faite grâce à un collecteur automatique intégré.



Figure II-2 : Système Grace[®] Reveleris[®] flash chromatographie.

La phase stationnaire est contenue dans des cartouches en plastiques de différents diamètres contenant de la silice normale ou greffée C₁₈ choisies selon la masse des fractions étudiées comme indiqués dans le [Tableau II-1](#) :

Tableau II-1 Tableau des différents cartouches avec les paramètres adaptés.

	Poids de la silice (g)	Poids de la fraction (mg)	Débit (ml/mn)
Phase normale	4	4-800	18
	12	12-2400	36
	40	40-8000	40
	80	80-16000	60
	120	120-24000	80
	320	330- 66000	120
Phase inverse	4	5-200	18
	12	19-600	30
	40	45-1350	40
	80	93-2800	60
	120	150-600	80

II.2.5 Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

II.2.5.1 CLHP analytique

Les analyses par CLHP des fractions étudiées ont été effectuées sur une chaîne CLPU (chromatographie liquide ultra-performante) Dionex U3000 pilotée par le logiciel Chromeleon[®], menu d'une pompe LPG-3000 SD, d'un détecteur à barrettes de diodes DAD-3000, d'un échantillonneur automatique WPS-3000 et d'un four TTC-3000 (réglé à 30°C) (Figure II-3).

Les conditions suivantes ont été utilisées :

Une colonne Interchim de stratégie C-18-HQ Uptisphere 250 x 4,6 mm

- Température : 30 °C

- Débit : 1 mL/min.

-volume injecté: xx mL.

- Un système d'éluion CH₃CN: H₂O (CH₃CN qualité CLHP, H₂O filtrée à 0,22 µm et 0,025% acidifiée avec le TFA).

-Détection : $\lambda = 205, 254$ et 366 nm.

Les analyses sont effectuées avec des gradients larges d' CH₃CN /H₂O pour avoir un chromatogramme de tous les produits suivis par des ajustements permettant le fractionnement est la purification.



Figure II-3 : CHPL Analytique Ultimate 3000.

II.2.5.2 CLHP semi-préparative

La chaîne CHPL (Dionex) semi-préparative employée pour la purification des produits est constituée d'une pompe LPG 3400AB avec un dégazeur intègre, un injecteur automatique ASI-100, un détecteur UVD 340S, un collecteur AFC 3000 et un four STH 585 (réglé à 30°)

l'ensemble est pilotés par le logiciel Chromeleon® avec une pression maximale de 250 bars, et un débit de 1 à 5 mL/min selon la colonne utilisée (Figure II-4).

La colonne utilisée pour la purification est une colonne phase inverse (Phenomenex 250 x 10 mm, Luna 5 μ), la phase mobile est la même utilisé en CLHP analytique (CH₃CN et l'eau distillée additionnée de 0,025 % TFA). Les conditions chromatographiques (gradient, débit et détection) sont précisées selon la composition et la séparation souhaitée.



Figure II-4 : CLHP semipréparative.

II.2.5.3 CLHP préparative

Une chaîne CLHP préparative (Armen Instrument) a été utilisée pour le fractionnement sur silice RP-18. La chaîne est constituée d'une pompe Armen® AP250/500 avec un injecteur ACC 250/500, un détecteur UV Merck® K-2501 Knauer et une colonne Merck® C₁₈ (Lichrospher, 20 x 5 cm, 12 μ). Le suivi de la purification est effectué avec un enregistreur Kipp&Zonen BP111 (UV) et les fractions obtenues sont récoltées par un collecteur BÜCHI C-660 (Figure II-5).



Figure II-5 : Chaîne de chromatographie préparative.

Le système de solvant utilisé est le : CH_3CN : H_2O (CH_3CN qualité CLHP et H_2O filtrée à $0,45 \mu\text{m}$ et $0,025\%$ acidifiée avec le TFA) élué avec un débit entre 75 et $100 \text{ mL}/\text{min}$ (changement selon la quantité et la simplicité des fractions).

II.2.5.4 CLHP préparative (Gilson PLC 2050)

La **GILSON 2050** (Figure II-6) est une chaîne utilisée pour le fractionnement ou pour la purification des mélanges relativement séparables. Cette chaîne est dotée d'une détection UV/VIS permet le suivi du chromatogramme sur quatre longueur d'ondes, une pompe intégrée qui peut atteindre $50 \text{ mL}/\text{mn}$, un collecteur de fraction, une colonne Interchim Uptispherstratégie C-18-HQ SUM ($250 \times 21,2 \text{ mm}$) et un injecteur manuel de capacité de 1 mL .

Les paramètres : débit, pression, voies de solvants et leurs proportions, longueurs d'ondes UV choisies et collecteur sont contrôlés par le logiciel « Gilson GliderPrep ; GGP » (version V5.1e.02).

Le système de solvants employé est le même que celui de la CLHP semi-préparative (CH_3CN et l'eau distillée additionnée de $0,025 \%$ TFA).

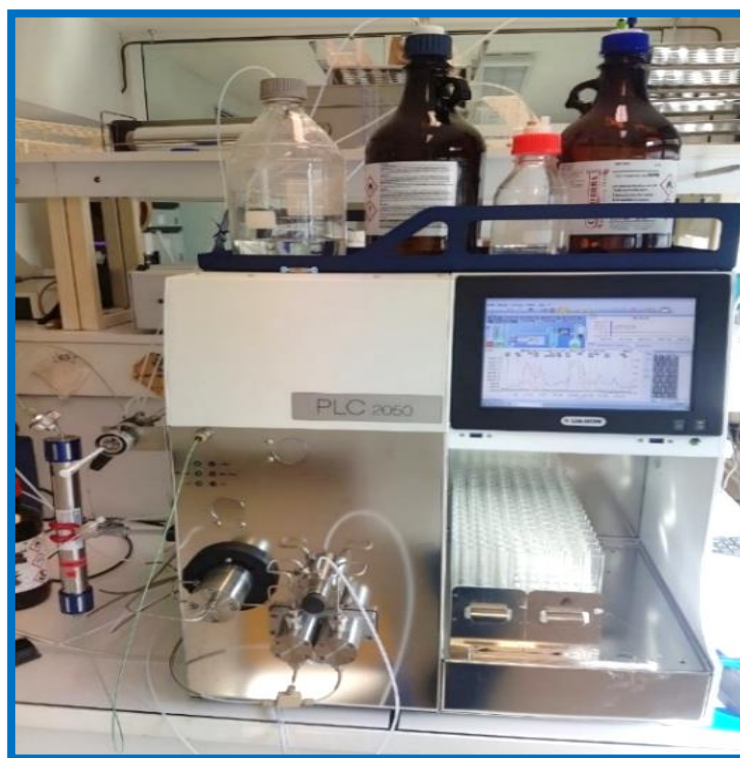


Figure II-6 : Système de purification CLP GILSON 2050.

II.3 Méthodes physico-chimique

II.3.1 Pouvoir rotatoire

Les pouvoirs rotatoires spécifiques des nouveaux produits sont mesurés par un polarimètre électronique Perkin-Elmer, Model 341 à 20°C équipée d'une lampe à sodium ($\lambda=589$ nm) comme source lumineuse. Les produits sont déposés dans une cuve spécifique de 10cm de longueur et 1ml de volume, après calibrage à zéro avec le solvant de solubilisation, le $[\alpha]_D$ de chaque produit est exprimé en degré et calculé selon la formule suivante :

$$[\alpha]_D = (100 \times \alpha) / (l \times c)$$

α : angle de rotation en degré lu sur le polarimètre

l : longueur en dm de la cuve de mesure

c : concentration de la molécule en solution en g/100 ml.

II.3.2 Spectrométrie de masse

Les spectres de masse en haute résolution des nouveaux produits ont été enregistrés en électro-spray sur un appareil micromasse ESI-Q-TOF[®] (Manchester, UK). (Manchester, UK).

II.3.3 Spectrométrie de résonance magnétique (RMN)

L'élucidation structurale des composés isolés au cours de notre travail s'appuie largement sur les données RMN obtenues à l'aide de deux appareils, à 500 MHz pour la RMN ^1H et à 125 MHz pour la RMN ^{13}C Brüker Avance DRX-500 soit un appareil à 600 MHz pour la RMN ^1H et à 150 pour la RMN ^{13}C Brüker Avance DRX-600 équipé d'une cryosonde. Deux versions du logiciel TopSpin 3.2 ou 4.0.6 (fournis par Brüker) ont été exploitées pour le traitement des spectres enregistrés. Les échantillons sont solubilisés avec des solvants deutérés CD_3OD ou DMSO-d_6 dans des tubes de 5 mm de diamètre.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS); les constantes de couplage sont exprimées en Hz.

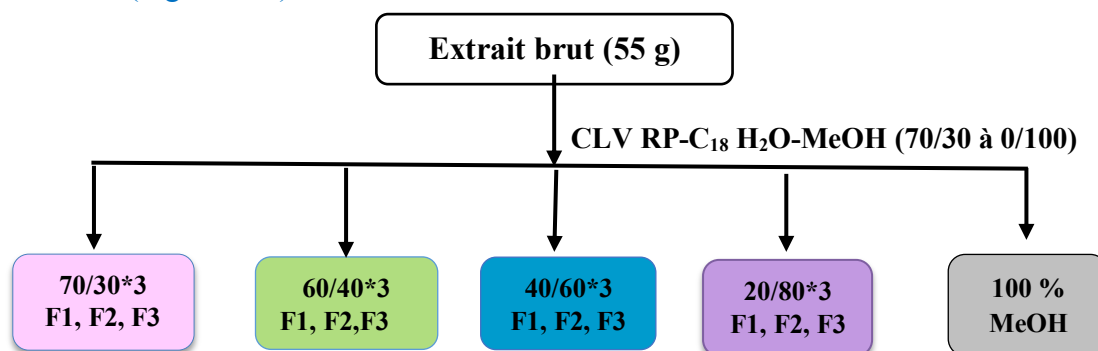
Les programmes de séquences impulsionsnelles standard fournies par Brüker ont permis de réaliser les expériences bidimensionnelles : COSY ^1H - ^1H courte distance (2J , 3J), HSQC- J modulé ^1H - ^{13}C direct (1J), HMBC ^1H - ^{13}C (longue distance (2J , 3J), TOCSY ^1H - ^1H (corrélations entre tous les protons d'un même système de spin, NOESY ^1H - ^1H ou ROESY ^1H - ^1H (couplage à travers l'espace).

II.4 Chimie extractive des racines de *Scabiosa semipapposa*

II.4.1 Extraction et fractionnement de l'extrait brut

La matière végétale séchée et broyée (1 Kg) a été macérée à une température ambiante pendant 72 h avec du Méthanol/Eau (80/20 V/V, 10 L), Cette macération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant pour obtenir un extrait hydrométhanolique de 100 g.

55 g de l'extrait hydrométhanolique ont été fractionnés par CLV en phase inverse C_{18} avec l'éluant H_2O -MeOH (70/30, 60/40, 40/60, 20/80, 0/100 : v/v). Des fractions de 200 ml ont été recueillies (Figure II-7).



Figuré II-7: Schéma de fractionnement de l'extrait brut des racines de *S.semipapposa* par CLV.

Les fractions obtenues sont regroupé dans le [Tableau II-2](#) avec leurs masses.

Tableau II-2 : Progression de la CLV sur silice greffée C₋₁₈ des racines de *S. semipapposa*.

Fractions	Masse (g)	Fractions	Masse (g)	Fractions	Masse (g)
70/30 (1)	25.8003	40/60 (1)	0.2606	MeOH 100%	3.2546
70/30 (2)	15.2393	40/60 (2)	1.6275		
70/30 (3)	1.5284	40/60 (3)	0.7943		
60/40 (1)	0.4343	20/80 (1)	0,198		
60/40 (2)	0.5408	20/80 (2)	1.7236		
60/40 (3)	0.7144	20/80 (3)	3.0546		

II.4.2 Purification

Avant d'entamer la séparation chromatographique des fractions résultantes de cette CLV, nous avons procédé à des tests CCM, en parallèle avec des analyses sur CHLP analytique, afin d'avoir une idée sur la richesse de chaque fraction, déterminer les conditions optimales de séparation et choisir la technique convenable pour une meilleure séparation. Le choix des fractions à purifiées a été déterminé comme il est indiqué sur la ([Figure II-8](#)).

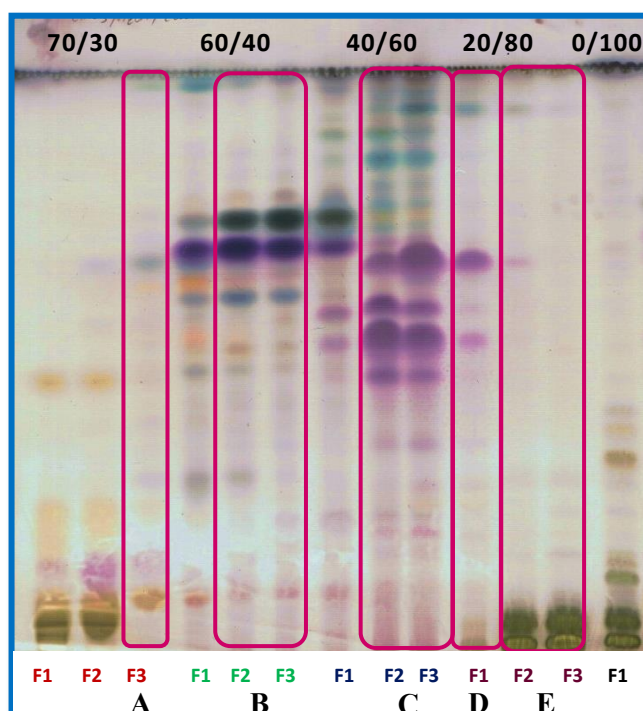


Figure II-8 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des fractions de CLV de la partie racine de *S.semipapposa*.

II.4.2.1 Purification de la fraction E

Une masse de 4,6 g (Figure II-9) a fait l'objet d'une séparation sur une CF sur gel de silice (Reveleris® 120 g) éluée avec un gradient de CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (100 :0 :0 - 60 :40 :7) pendant 68 mn pour donner 12 sous fractions. Les sous fractions recueillies ont été regroupées selon leurs profil CHPL et CCM (Tableau II-3).

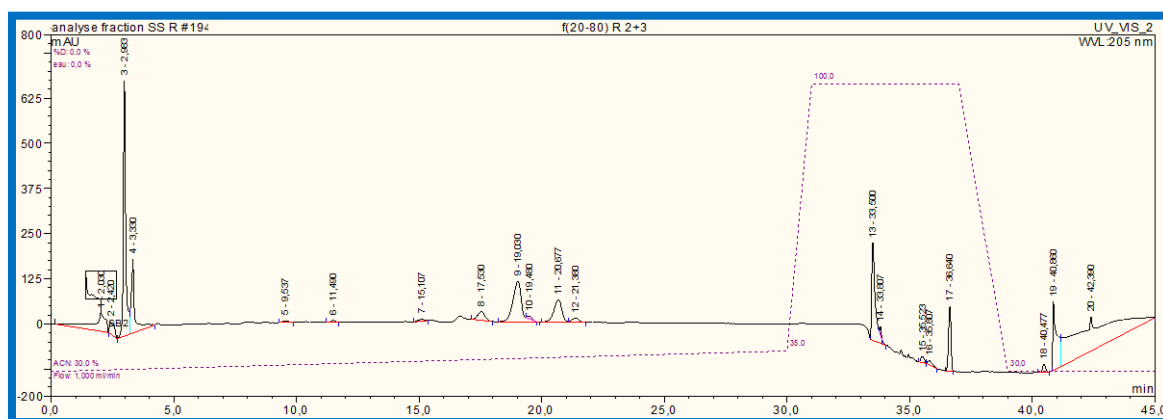


Figure II-9 : Chromatogramme CLHP analytique de la fraction E.

Tableau II-3 : Chromatographie Flash sur colonne (CF) de silice normale de la fraction E.

N°	Sous -fraction	Masse (mg)	N°	Sous -fraction	Masse (mg)
E-1	1-31	5.1	E-7	117-132	51
E-2	32	3.4	E-8	133-140	85.7
E-3	33-38	8.1	E-9	141-148	192.6
E-4	39-88	73.3	E-10	149-176	482.6
E-5	89-102	28.1	E-11	177-186	329.1
E-6	103-116	23.7	E-12	187-221	2438

Nous nous sommes intéressés par les fractions E-10, E-11 et E-12 (Figure II-10).

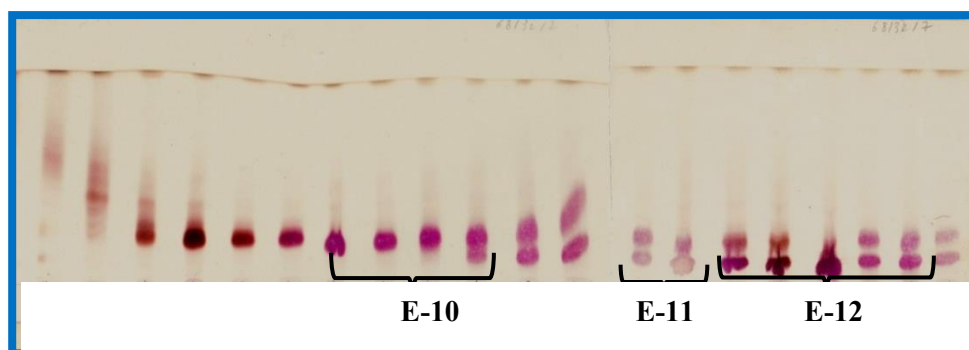


Figure II-10: Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sous fractions E-10, E-11, E-12.

La sous fraction **E-10** (482.6 mg) a été purifiée par CLHP préparative éluee avec un gradient de 30-35% de CH₃CN pendant 45mn, pour donner le composé **Sp5** (9,4 mg). Les sous fractions **E10-35-36** (39.3mg) et **E10-42-44** (59.4mg) issues de ce dernier fractionnement ont été combinées pour être purifiées par CLHP semi-préparative en utilisant CH₃CN : H₂O (32-34% de CH₃CN) pendant 18 mn. Ceci a mené à l'isolement de : **Sp4** (3,0 mg, *t_R* 11,5 min), **Sp14** (2,2 mg, *t_R* 12,4 min), **Sp3** (3, 2 mg, *t_R* 13,1 min), **Sp2** (7,8 mg, *t_R* 14.4 min), et **Sp16** (3,7 mg, *t_R* 15.4 min), **Sp1** (10.4 mg, *t_R* 15,5 min), **Sp15** (2.5 mg, *t_R* 17,1 min) respectivement (Figure II-11).

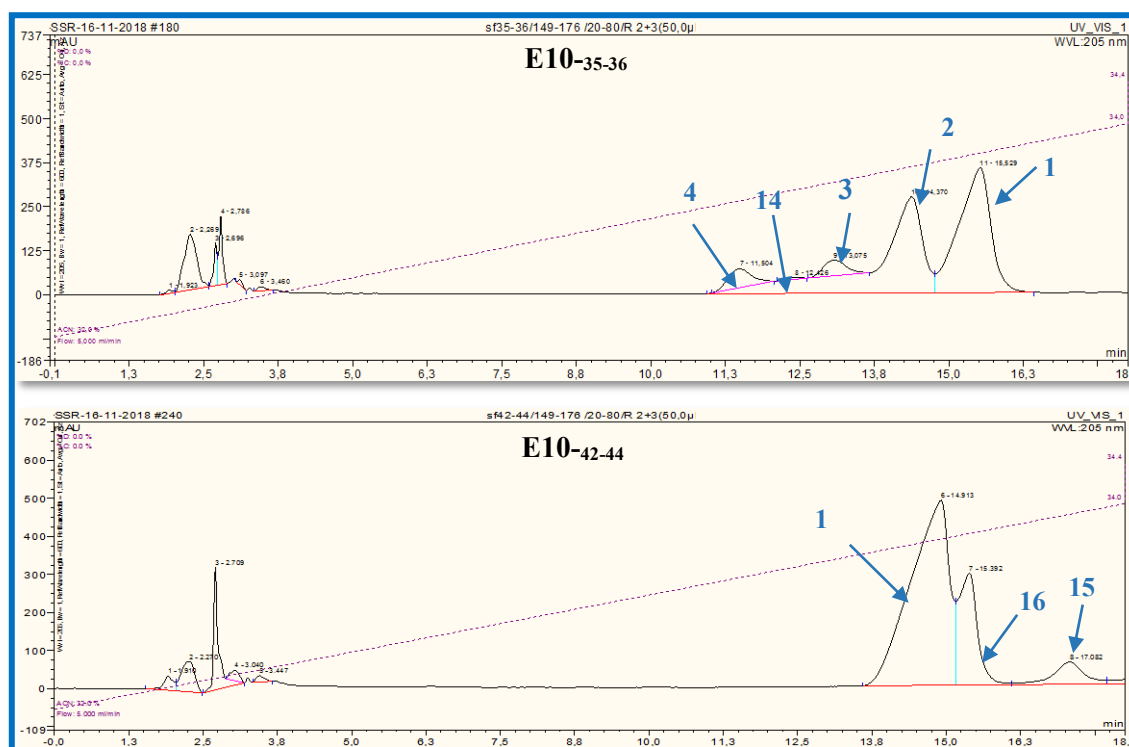


Figure II-11 : Chromatogrammes CLHP de purification des sous -fractions **E10-35-36**, **E10-42-44**.

La sous fraction **E11** (329 mg) a été purifiée par CF sur RP-18 en utilisant un gradient de MeOH/H₂O (20-80% de CH₃OH) pendant 34 min pour donner 39 sous- fractions. Le composé **Sp7** (9.3 mg) a été obtenu à l'état pur à partir de la sous -fraction **E11-26-27**. Cependant, la sous fraction **E11-28-39** a été ultérieurement fractionnée par CF sur gel de silice, SiO₂ éluee avec un système CH₂Cl₂ /MeOH/H₂O : 68/32/3 pour donner 7 sous fractions. La sous fraction **E11-28-39** (12-20) (53,7 mg) a subi une purification par CLHP semi-préparative avec un gradient de CH₃CN : H₂O (32-34% de CH₃CN) pendant 18 mn pour mener aux composés: **Sp4** (2 mg, *t_R* 11.3 min), **Sp7** (10.8 mg, *t_R* 12.4 min), **Sp 6** (21.4 mg, *t_R* 13.7 min) et **Sp1** (2.7 mg, *t_R* 14.8 min) (Figure II-12).

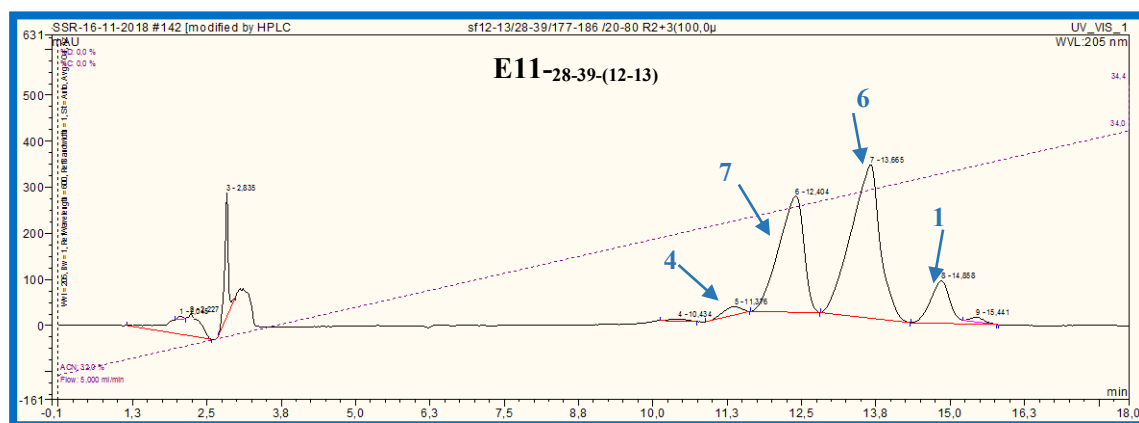


Figure II-12 : Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction **E11-28-39**.

La sous fraction **E12** (1.4g) a été purifiée avec une CLPH préparative en utilisant un système d'éluion de gradient de 30-35% de CH_3CN pendant 45mn pour offrir 51 sous fractions ainsi que les composés **Sp6** (70 mg) et **Sp10** (7.9 mg). La purification de la sous fraction **E12-12-13** (16.3 mg) et **E12-15** par CLHP semi-préparative en utilisant un gradient de 30-32% de CH_3CN pendant 15 mn a permis d'avoir le composés **Sp9** (2.8 mg, t_R 6.9 min) , **Sp10** (3.3 mg, t_R 7.7 min), les composés **Sp 12** (2.6 mg, t_R 8.2 min) et **Sp11** (1.9 mg, t_R 8.9 min) respectivement . Alors que les deux sous fractions **E12-25-27** (29.3) et **E12-31-34** (77mg) ont été purifiées par CLHP semi –préparative en utilisant un système d'éluion de gradient de 32-34% pendant 18 mn pour donner les composés **Sp8** (17.5 mg, t_R 10.6 min), **Sp 7** (8.4 mg, t_R 11.1 min) et le **Sp13+4** (15.3 mg, t_R 11.3 mn) en mélange et **Sp6** (5.5 mg, t_R 11.8 min). Finalement les composés **Sp 6** (4.4 mg, t_R 11.0 min), **Sp1** (9.7 mg, t_R 12.1 min) et **Sp16** (1 mg, t_R 12.4 min), ont été obtenus à partir de la sous fraction **E12-46-48** (60 mg) purifiée par CLHP semi-préparative avec un gradient de 33-35% de CH_3CN en 15 min (Figure II-13).

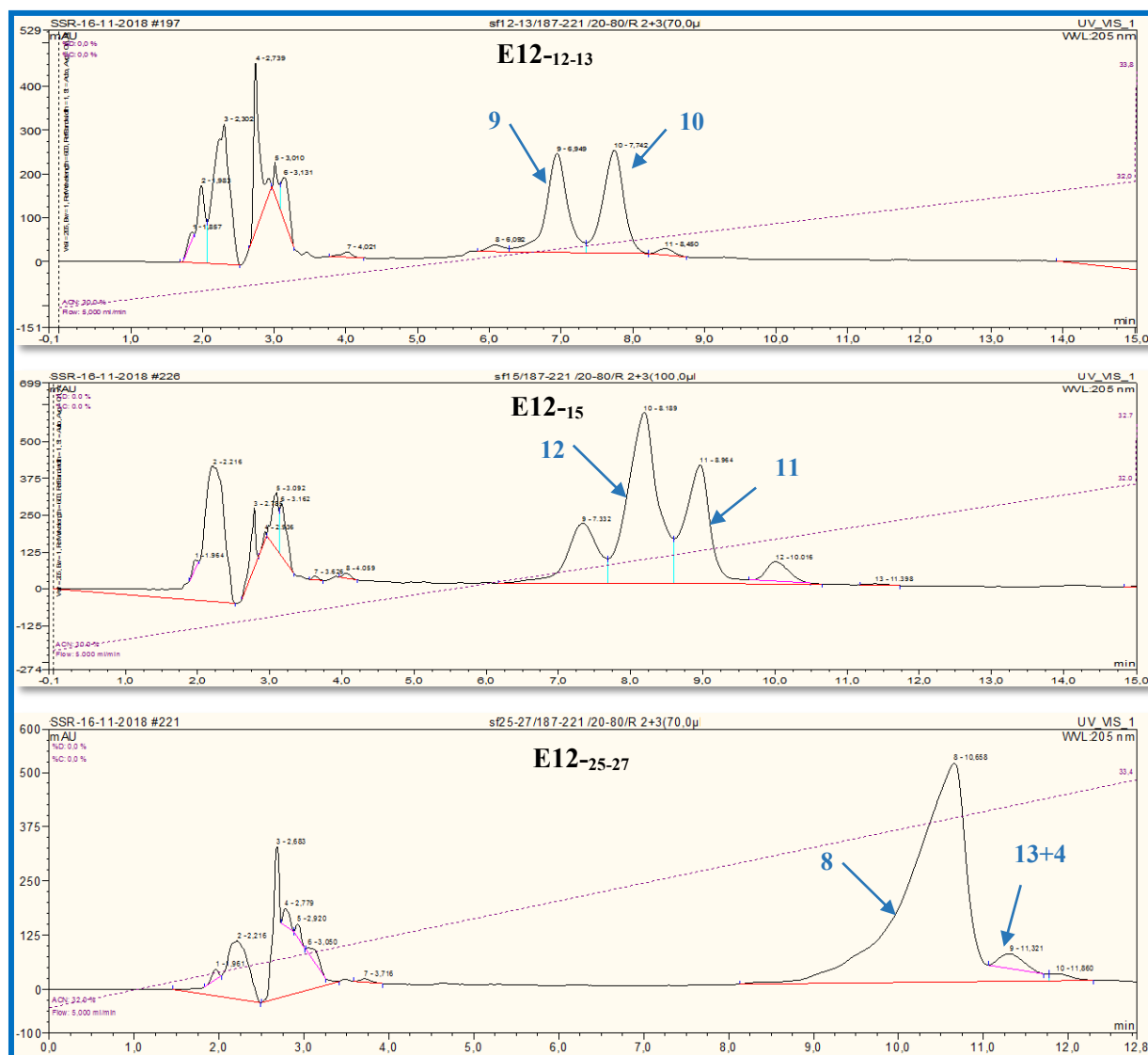


Figure II-13 : Chromatogrammes CLHP de purification des sous fractions **E12-12-13**, **E12-15** et **E12-25-27**.

II.4.2.2 Hydrolyse acide de la fraction E

100 mg de la fraction **CLV E** est dissout dans 15 mL d'une solution aqueuse de TFA 2N. La solution est mise à reflux en maintenant l'ébullition pendant 4 heures. Après refroidissement, le mélange réactionnel est soumis à une extraction liquide-liquide contre CH_2Cl_2 (3x 7ml) afin d'extraire les génines et la phase aqueuse obtenue offre un résidu monosaccharidique (56,7mg).

Le mélange de sucres est analysé par CCM avec des témoins de monosaccharides commerciaux dans le système: Butanol-Isopropanol-Acetone-Eau (20:10:7:6), (**Figure II-14**). Après purification de ces sucres par CCM préparative avec le même éluant, leur pouvoir rotatoire est mesuré.

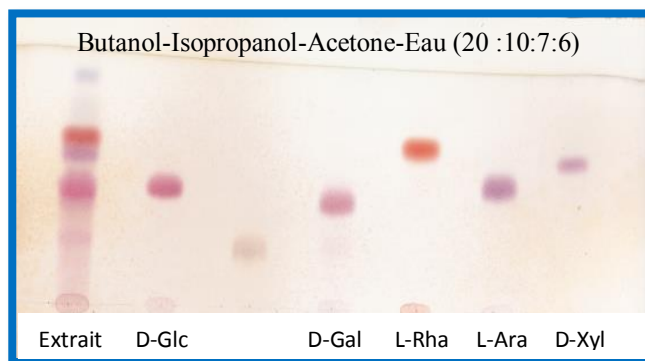


Figure II-14 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sucres isolés.

II.4.2.3 Purification de la fraction A

La flash chromatographie a été utilisée pour le fractionnement de **1,3 g** de la fraction **A** en utilisant une cartouche de 40 g de gel de silice en phase normale éluée avec un mélange de CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (100 :0 :0 à 70 :30 :5) pendant 39 mn. Ensuite la sous fraction **A-29-34** (27,5 mg) a été purifiée par CLHP semi-préparative avec un gradient de 10-30% de CH_3CN pendant 20 mn pour donner les composés **Sp24** (1.4mg, t_R 5.9 mn) et **Sp17** (3.5mg, t_R 11.1mn). La purification de la sous fraction **A-36-37** (23mg) par CLHP semi-préparative éluée avec le système isocratique de 10% d' CH_3CN pendant 6 mn puis de 10-30% pendant 20 mn a conduit à l'isolement des composés : **Sp25** (4 mg, t_R 4.5mn), **Sp27** (1.9 mg, t_R 13.7mn) et **Sp19** (3.4 mg , t_R 18.4mn) (Figure II-15).

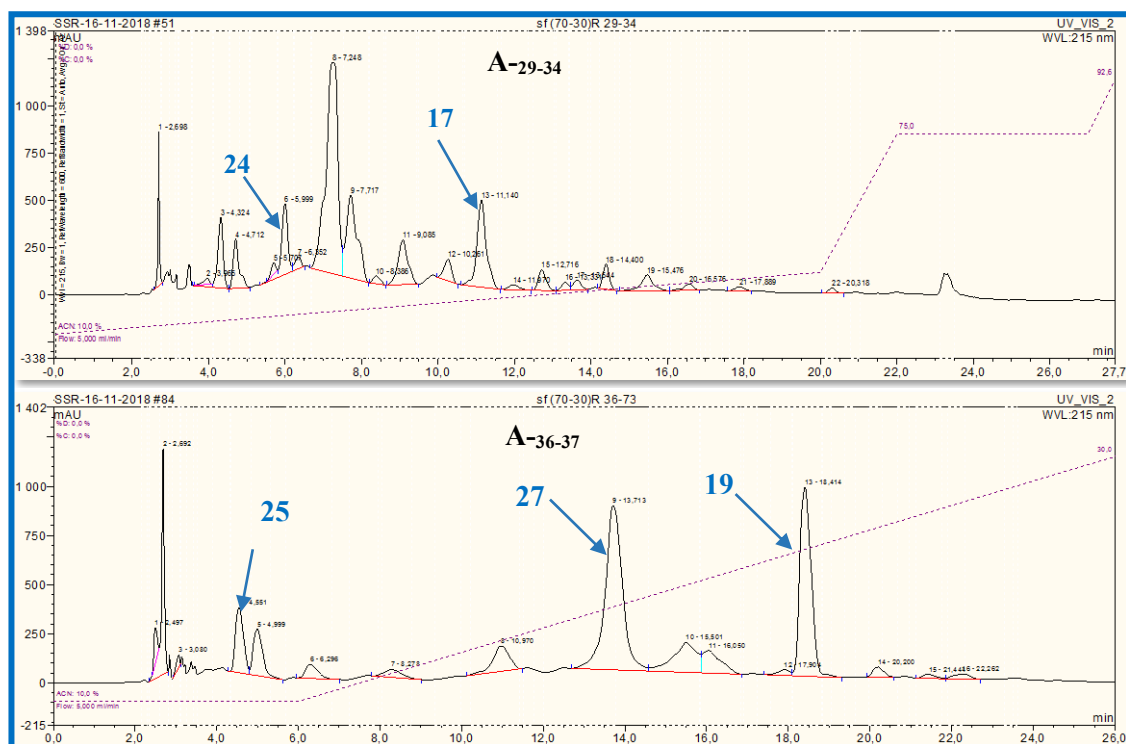


Figure II-15 :Chromatogrammes CLHP de purification de la sous fractions **A-29-34** et **A-36-37**.

II.4.2.4 Purification de la fraction B

La fraction **B** (1.25g) est chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale éluée avec un gradient de Acétate/MeOH [100:0 à 0:100 pour conduire au composé **Sp18** (31.3 mg) à l'état pur ainsi que 324 sous fractions. La purification des sous fractions **B-59-63**(38.3mg) et **B-70-80** (58.2 mg) par CLHP semi-préparative éluées avec 15 % de CH₃CN en isocratique pendant 25 mn a permis d'obtenir les produits **Sp18** (8.2 mg, t_R 8.3 mn), **Sp 17** (25.8 mg, t_R 9.9 mn), **Sp22** (11.8 mg, t_R 19.4 mn) et **Sp 23** (2.9mg, t_R 22.1mn) (Figure II-16).

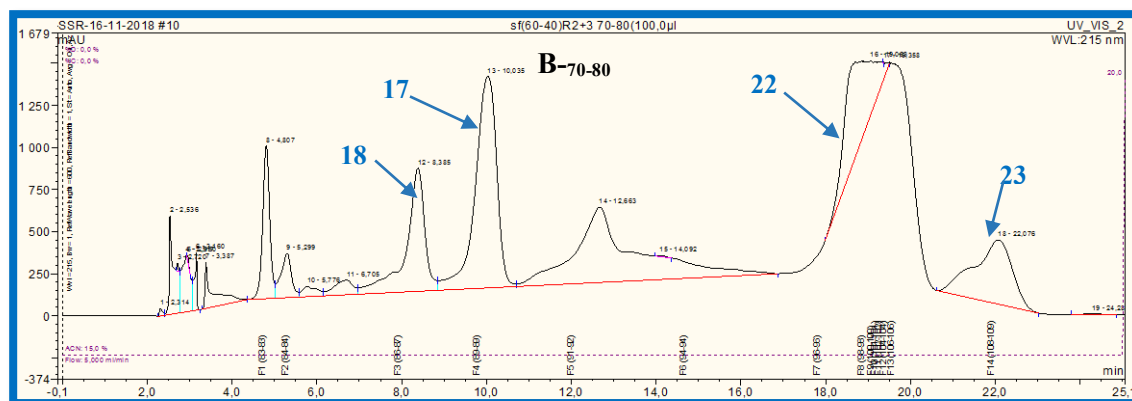


Figure II-16: Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction **B-70-80**.

II.4.2.5 Purification de la fraction C

Une purification par chromatographie flash a été réalisée sur une quantité de 1,2 g de la fraction **C** en utilisant un gradient de CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (100:0:0 à 60:40:5) pendant 48,5 min. a permis d'avoir 104 sous fraction. La sous fraction **C-10-14** (24.8mg) est purifiée avec une CHPL semi-préparative éluée avec un système solvant en isocratique à 25% de CH₃CN pendant 20 mn conduisant au composé **Sp21** (4,7mg, t_R 8.1mn) et le composé **Sp 26** (6,9 mg, t_R 11.1mn) (Figure II-17).

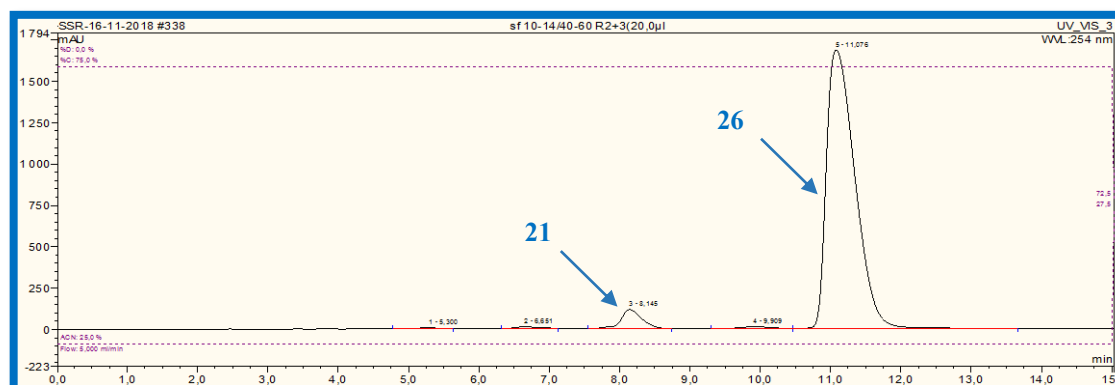


Figure II-17: Chromatogramme CLHP de purification de la sous fraction **C-10-14**.

II.4.2.6 Purification de la fraction D

La fraction **D** (198 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale avec comme éluant un gradient de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (100 :0 :0 ; 70 :30-5 ; 0-100-0) pour donner 173 sous fractions, ainsi que le produit **Sp20** (11,3mg).

II.5 Chimie extractive des parties aériennes de *Scabiosasemipapposa*

II.5.1 Extraction et fractionnement de l'extrait Brut

Les parties aériennes de la plante *S.semipapposa* (700 g), préalablement séchés puis broyés sont mis en macération à température ambiante dans un mélange Méthanol/Eau (80/20 V/V; 7 L) pendant 72h, cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. La filtration et l'évaporation du solvant ont permis d'obtenir 50 g d'extrait hydrométhanolique.

Un traitement analogue à celui de la partie racine a été adopté. En effet, l'extrait hydrométhanolique brut obtenu (50g) a été aussi soumis à une chromatographie liquide sous vide (CLV) en phase inverse RP- C_{18} avec un mélange Eau/Méthanol (70/30,60/40,40/60,20/80, 0/100) selon le schéma suivant :

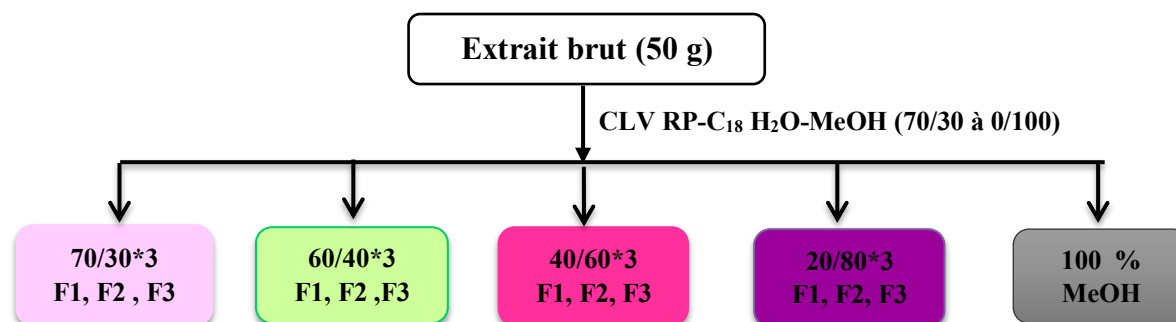


Figure II-18: Schéma de fractionnement par CLV de l'extrait brut des parties aériennes de *S.semipapposa*.

Les fractions obtenues avec leurs masses sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau II-4 : Progression de la CLV sur silice greffée RP- C_{18} des parties aériennes de *s.semipapposa*.

Fractions	Masse (g)	Fractions	Masse (g)	Fractions	Masse (g)
70/30 (1)	9.1323	40/60 (1)	1.1505	MeOH 100%	1.7923
70/30 (2)	16.8756	40/60 (2)	5.4106		
70/30 (3)	2.805	40/60 (3)	5.3642		
60/40 (1)	1.4149	20/80 (1)	1.8337		
60/40 (2)	1.3076	20/80 (2)	1.2964		
60/40 (3)	1.4272	20/80 (3)	0.7339		

II.5.2 Purification

Suite à leur profil CCM (gel de silice en phase normale) (Figure II-19) et profil CLHP les fractions **A** et **B** ont été choisis pour la purification et l'isolement des métabolites secondaires.

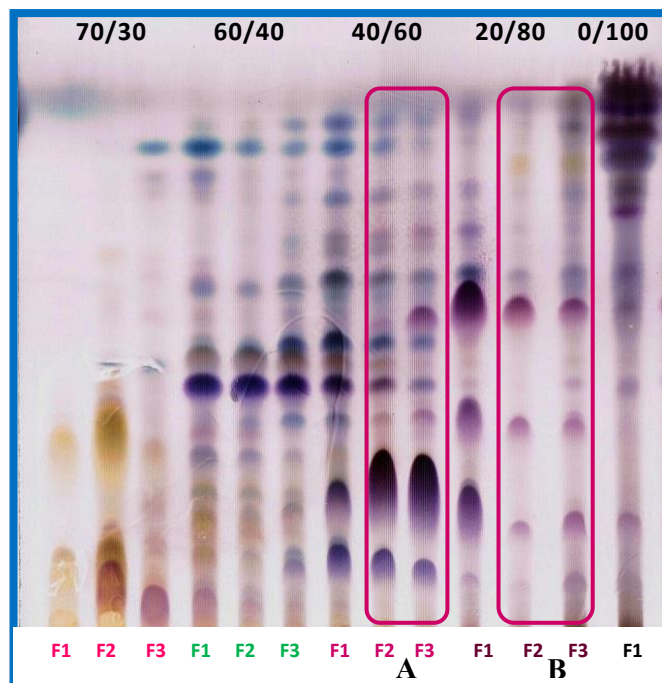


Figure II-19 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des fractions de CLV des parties aériennes de *S.semipapposa*.

II.5.2.1 Purification de la fraction A

La fraction (4 g) subit un premier fractionnement par CF (Figure II-20) sur gel de silice normale élue avec un gradient binaire CH_2Cl_2 /MeOH (100 :0 à 60 :40) pendant 55 mn permettant ainsi d'obtenir le produit **Sp29** (3 mg) sous forme d'un précipité et 146 sous fractions.

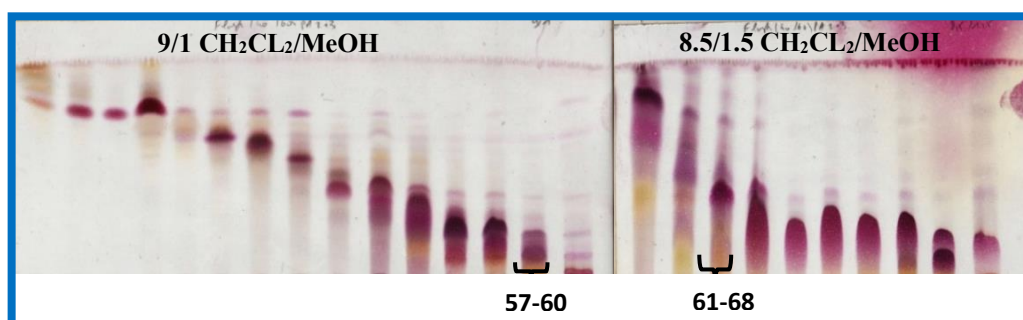


Figure II-20: Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sous fractions de la Flash chromatographie de la fraction A.

La sous fraction résultante **A-57-60** (38.4mg) est ensuite purifiée par CLP en utilisant un gradient de (10-45% de CH₃CN) pendant 30 mn pour conduire au composé **Sp17** (8.5mg), alors que le produit **Sp18** (5.2mg) est obtenu à partir de la purification de la sous fraction **A-61-68** avec un gradient de (10-50% de CH₃CN) pendant 45 mn (**Figure II-21**).

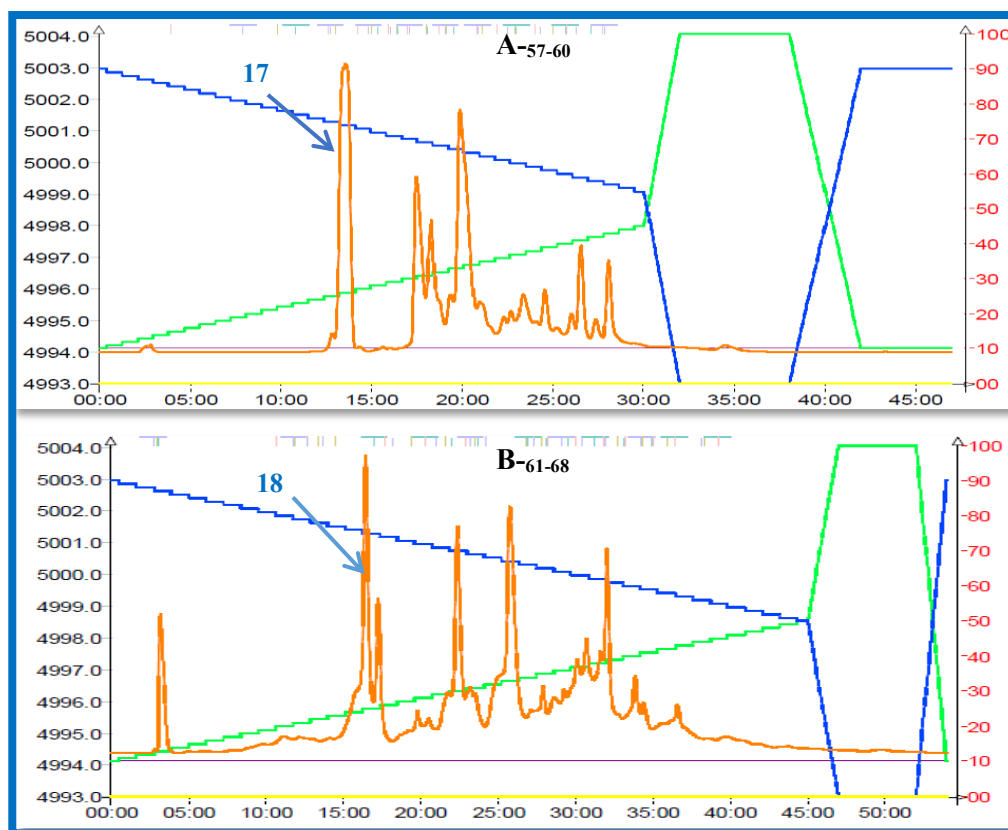


Figure II-21 : Chromatogramme CLP de purification de la sous fraction **A-57-60** et **A-61-68**.

II.5.2.2 Purification de la fraction B

Une masse de 1.86 g de la fraction B a été soumise à une Flashe chromatographie sur une colonne de silice normale éluée avec le gradient CH₂Cl₂/MeOH (100 :0 à 60 :40) pendant 46 mn pour obtenir le composé **Sp30** (1mg) sous forme d'un précipité à partir de la sous fraction B₂₅.

La purification de la sous fraction B-22 par CLP éluée avec un gradient de (20-55% de CH₃CN) pendant 18 mn a permis d'avoir le composé **Sp31** (3.4mg, t_R 17.4 mn), cependant le composé **Sp28** (6 mg, t_R 16.5mn) a été obtenu à partir de la fraction B₃₂₋₃₅ en utilisant un système solvant de (30-60% de CH₃CN) pendant 18 mn (**Figure II-22,II-23**).

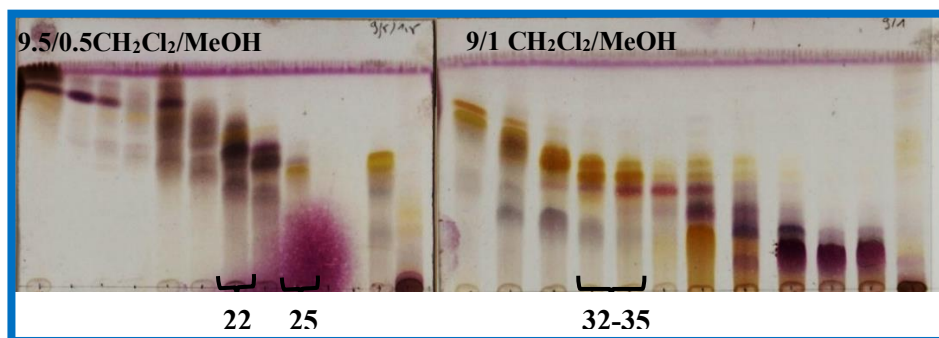


Figure II-22 : Chromatographie sur couche mince en Phase normale des sous fractions de la Flash chromatographie de la fraction **B**.

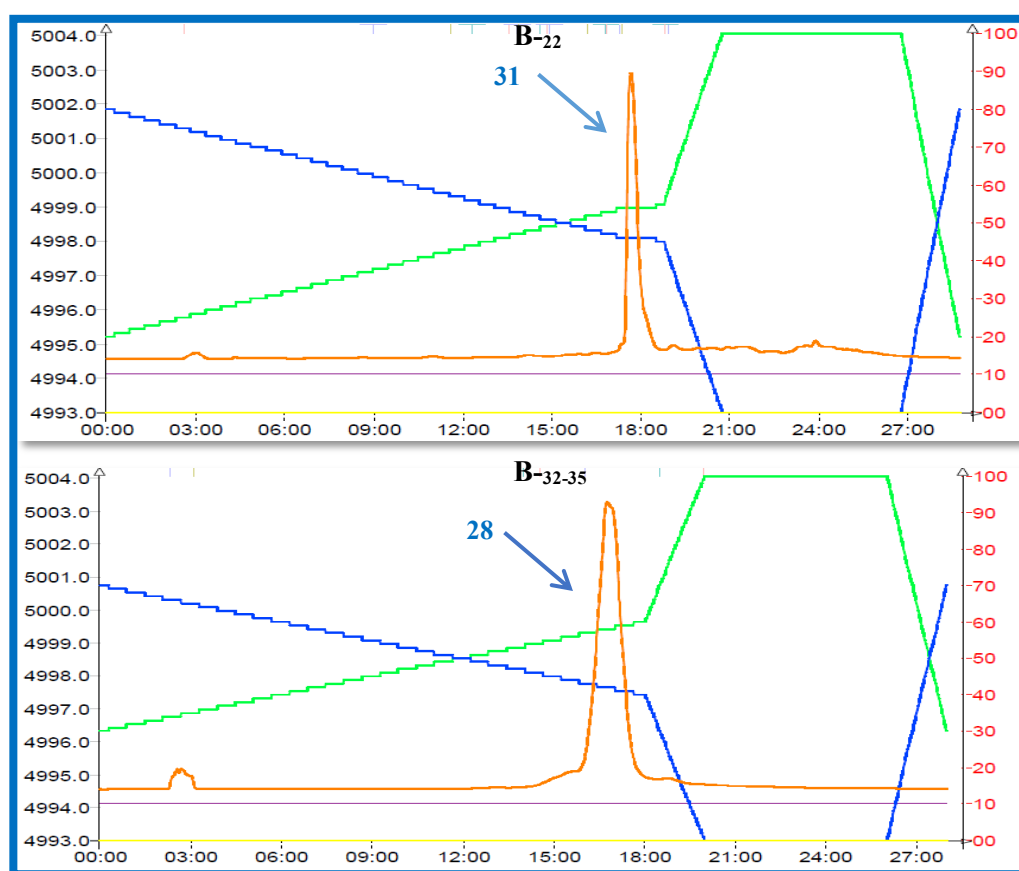


Figure II-23 : Chromatogramme CHPL de purification de la sous fraction **B-22** et **B-32-35**.

II.6 Chimie extractive de l'espèce *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau

II.6.1 Extraction et fractionnement de l'extrait brut

Les parties aériennes de la plante *Tuberaria guttata* sont séchées puis finement broyées. La poudre obtenue (1K g) est mise à macération dans le mélange Méthanol/Eau (80/20 V/V ,10 L) pendant 48 heures à une température ambiante (cette opération est répétée trois fois avec un

renouvellement du solvant). La solution extractive obtenue est concentrée par évaporation pour donner 135,623 g d'extrait brut.

50 g ont été fractionnés par CLV en phase inverse RP-C₁₈ avec un mélange Eau /Méthanol (70/30,60/40,40/60,20/80, 0/100) selon le schéma suivant :

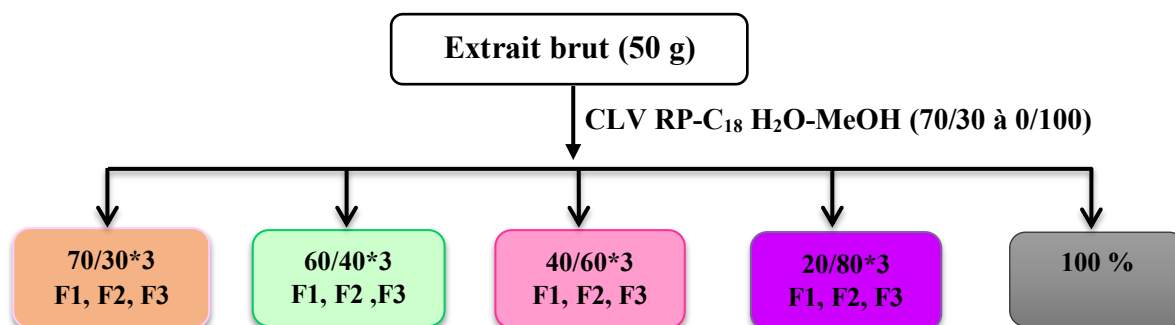


Figure II-24: Schéma de fractionnement de l'extrait brut des de *T.guttata* par CLV.

Les fractions obtenues sont représenté dans le tableau suivant avec leurs masses.

Tableau II-5 : Progression de la CLV sur silice greffée RP-C₁₈ des parties aériennes de *T.guttata*.

Fractions	Quantité (g)	Fractions	Quantité (g)	Fractions	Quantité (g)
70/30 (1)	14.3392	40/60 (1)	1.1954	MeOH 100 %	1.2671
70/30 (2)	18.8804	40/60 (2)	3.3976		
70/30 (3)	3.2269	40/60 (3)	0.8872		
60/40 (1)	1.4692	20/80 (1)	0.2637		
60/40 (2)	2.9461	20/80 (2)	0.3286		
60/40 (3)	2.3435	20/80 (3)	0.1964		

II.6.2 Purification

Les CCM réalisées sur les fractions issues de la CLV dans différents systèmes de solvants, mettent en relief la richesse relative de la fraction **A** et **B** en métabolites secondaires et plus particulièrement les flavonoïdes, d'où notre intérêt à les soumettre à des investigations chimiques en vue de déterminer leur composition chimique (Figure II-25).

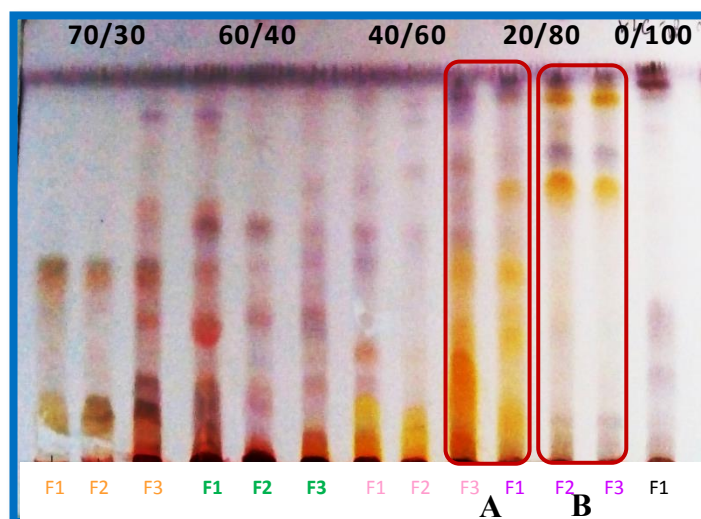


Figure II-25: Profil CCM en Phase normale des fractions de CLV de *T.guttata*.

II.6.2.1 Purification de la fraction A

La purification de la fraction A (787 mg) menée successivement par une chromatographie sur colonne de polyamide éluee par un gradient de toluène/méthanol (100:0 – 70:30), suivie d'une CC de silice en phase normale de la sous fraction A-55-58 éluee par un mélange isocratique AcOEt /MeOH/H₂O (100:10 :5) a abouti à l'isolement du composé **Tb3** (11.5 mg).

II.6.2.2 Purification de la fraction B

La fraction **B** révèle sur CCM deux taches majoritaires. La chromatographie sur une colonne de gel de silice avec un gradient de CHCl₃/AcOEt (100:0- 50:50) a permis d'obtenir les composés **Tb1** (5.6 mg) et **Tb2** (1.4 mg) à l'état pur.

II.7 Dosage et évaluation des activités biologiques

La réalisation de cette partie a été effectuée au niveau du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt, Constantine). Les dosages phytochimiques ainsi que les tests antioxydants et antienzymatique ont été effectués dans des microplaques de 96 puits et la lecture des absorbances a été réalisée au moyen d'un lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire). Tous les tests sont réalisés en triplicata.

II.7.1 Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits bruts et des extraits de CLV des deux espèces *Scabiosa semipapposa* et *Tuberaria guttata* est déterminé selon la méthode de dosage en microplaque décrite par [Muller et al. \(2010\)](#) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les échantillons sont préparés à une concentration de 1 mg /ml (MeOH /Eau). Un volume de 20µl des échantillons à différentes concentrations est transféré dans des puits de microplaques puis additionné de 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu à 10% et 75µl de Na₂CO₃ à 7,5% . Les absorbances sont mesurés à 765nm après une incubation de 2 heures à l'abri de la lumière. Afin de mettre en évidence la teneur en polyphénols totaux, une courbe d'étalonnage a été établie avec des solutions à différentes concentration d'acide gallique et les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique (µg EAG/mg d'extrait).

La méthode de [Topçu et al. \(2007\)](#) a été utilisé pour déterminer la teneur des flavonoïdes totaux des mêmes extraits. Un volume de 50µl d'échantillon de chaque dilution (préalablement préparés à 1mg /ml) est transféré dans un puits de microplaque suivi par l'ajout de 130µl de MeOH, 10 µL d'une solution de CH₃CO₂K, et 10 µL d'une solution d'Al(NO₃)₃. Après une incubation de 40 min, les absorbances sont enregistrées à 415nm. Les résultats sont exprimés en µg EQ/mg d'extrait en se basant sur une courbe d'étalonnage tracé en utilisant une gamme de dilution de la quercétine.

II.7.2 Evaluation de l'activité antioxydante

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro* en utilisant des méthodes qui témoignent de l'aptitude d'un extrait naturel à piéger les radicaux libres, et compte tenu de la complexité des mécanismes d'oxydation [[Huang et al., 2005](#) ; [Prior et al., 2005](#)], il est admis qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour évaluer le potentiel antioxydant. Ainsi, nous avons choisi trois méthodes complémentaires avec deux mécanismes d'action ; un effet scavenger (DPPH, ABTS) et une activité réductrice du cuivre (CUPRAC).

Les échantillons étudiés sont des extraits bruts et des fractions de CLV des parties aériennes et racinaires de *S. semipapposa* ainsi que les parties aériennes de *T. guttata*.

II.7.2.1 Test de piégeage du radical DPPH•

L'activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH• (2,2diphényl-1-1-picrylhydrazyl) est réalisée selon la méthode décrite par [Öztürk et al.\(2011\)](#).

Principe du test

La réduction du DPPH par des antioxydants, capables de céder un atome d'hydrogène, s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune mesurable par spectrophotométrie à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti-radicalaire.

Procédure

Une solution de DPPH à 01.mM est préparée dans du méthanol et conservée à 4°C à l'abri de la lumière. Les solutions d'échantillons sont préparés en série de dilution de 1/2 à partir d'une solution mère de 4 mg /ml pour *S.semipapposa* et de 0.5 mg/ml pour *T.guttata* dans le méthanol ou dans de l'eau selon la solubilité de l'extrait.

Des antioxydants de référence (BHA et BHT) ont également été analysés en utilisant la même procédure.

Dans les puits des microplaques, 40µl de chaque échantillon à différentes concentrations ainsi que des standards sont déposés puis un volume de 160µl de la solution méthanolique de DPPH est ajouté. Le contrôle négatif est préparé en remplaçant les 40 µl d'échantillon par du méthanol ou d'eau distillée

La lecture des plaques se fait à 517 nm après une incubation à une température ambiante pendant 30 mn à l'obscurité.

L'absorbance lue est ensuite convertie en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs témoin}] \times 100$$

II.7.2.2 Test de piégeage du radical ABTS^{•+}

Le protocole utilisé est celui décrit par [Re et al.\(1999\)](#) avec des volumes ajustés pour une manipulation dans des microplaques.

Principe du test

La génération du radical ABTS^{•+} est basée sur la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) donnant naissance à une solution bleu vert (chromophore ABTS^{•+}). Pour cela, un volume de 5ml de la solution d'ABTS (7nM) est mélangé avec 5 ml persulfate de potassium (2,45nM). Le mélange est conservé à 4 °C pendant 16h avant l'utilisation. La solution ABTS^{•+} est diluée avec du méthanol ou de l'eau distillée à une absorbance de 0,70 ± 0,02 à 734 nm.

Procédure

Les échantillons sont préparés de la même manière que dans le test de piégeage du radical DPPH sauf pour *Tuberaria*, une série de dilution de 1/2 est effectuée pour les échantillons à partir d'une solution mère de 0.25 mg /ml.

Un volume de 160µl de la solution ABTS⁺ est ajouté à 40µl de chaque échantillon déposé au préalable dans les puits des microplaques. Le contrôle négatif est préparé en mélangeant le même volume de la solution réactionnelle en remplaçant les 40µl de l'échantillon par du méthanol. Après une incubation de 10 mn, la réduction du radical est estimée par les absorbances mesurées après la lecture de microplaque à 734 nm.

Les standards utilisés sont le BHA et le BHT à 0.5 mg /ml dans le méthanol.

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est calculé suivant cette formule :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs témoin}] \times 100$$

II.7.2.3 Test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)

Le principe du test est basé sur la capacité d'un antioxydant à réduire le complexe néocuproïne - cuivre (Nc₂-Cu²⁺) qui se traduit par la diminution de l'absorbance de ce complexe avec virement de couleur. La méthode suivit pour la détermination de cette capacité antioxydante est celle décrite par [Apak et al. \(2004\)](#).

Procédure

Dans les puits des microplaques sont déposés 60µl du tampon d'acétate d'ammonium (Ac-NH₄, 1 M, pH = 7), 50µl de la solution aqueuse de chlorure de cuivre (Cu Cl₂, 2H₂O, 10 mM), 50µl de la solution éthanolique néocuproïne (7.5 mM), et 40µl de chaque échantillon à différents concentrations. Après 1 heure d'incubation, les absorbances sont lues à 450nm.

Les standards utilisés sont le BHA et le BHT à 1 mg /ml.

II.7.3 Inhibition de l'activité enzymatique de l'alpha-glucosidase

Les échantillons étudiés concernent les extraits bruts et les fractions de CLV des parties aérienne de *T. guttata*. Le pouvoir inhibiteur des extraits étudiés à l'égard de l'enzyme alpha-glucosidase est déterminé par la méthode décrite par [Lordan et al. \(2013\)](#).

Procédure

Un volume de 50µl d'extrait et ajouté à 50µl de substrat 4- nitrophényl alpha D glucopyranoside (*p*-NPG est préparé à 5mM dans du tampon phosphate à 100mM), après incubation à 37 °C pendant 10 mn, 100µl de la solution d'enzyme (0.1U/ ml dans un tampon

phosphate à pH 6.9) sont additionnés au mélange suivi d'une deuxième incubation de 30mn à 37°C. L'absorbance est mesurée à 405nm. L'acarbose et la quercétine sont utilisés comme standards.

Témoin négatif : Substrat + Extrait + Tampon de l'enzyme

Témoin positif : Enzyme + Substrat + Solvant de l'extrait.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs}_{\text{Extrait}} - \text{Abs}_{\text{T négatif}}) / \text{Abs}_{\text{T positif}} \times 100$$

Analyse des données

Les données sont analysées à l'aide du logiciel statistique Graphpad prism7.exe, et le test ANOVA a été réalisé pour déterminer la signification des différences entre les moyennes des teneurs en polyphénols, flavonoïdes, et les activités antioxydantes ainsi que l'activité inhibitrice de l'alpha glucosidase des extraits des deux plantes. Le niveau de signification est considéré à $p < 0,05$.

-A-

Apak, R., Guculu, K., Ozyurek, M., S.E. Karademir., (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of agricultur and food chemistry*. 52 , 7970-7981.

-B-

Blois M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*. 181,1119-1200.

-H-

Huang, D., Ou, B., Prior, R L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultur and Food Chemistry*. 53, 1841-1856.

-L-

Lordan, S., Smyth, T.J., Soler-Vila, A., Stanton, C., Ross, R.P.(2013). The α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chemistry*.141 (3), 2170-6.

-M-

Müller, L, Gnoyke S, Popken AM, Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 43, 992-999.

-O-

Öztürk, M., Duru, M.E., Kivrak, Ş., Mercan-Doğan,N.,Türkoglu ,A., Özlere,M.,A. (2011) .In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms . *Food Chemical Toxicology*.49,(6),1353-1360.

-R-

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultur and Food Chemistry*. 53, 4290-4302.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala , A., Yang ,M., Rice-Evans, C.(1999) .Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26 (9–10), 1231-1237.

-S-

Singleton,V.,L. Rossi.J.,A. (1965) .Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-qPhosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16,144-158.

-T-

Topçu G, Ay A, Bilici A, Sarıkürkcü C, Öztürk M, Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 103,816–822.

PARTIE III

Résultats et discussion

CHAPITRE 1

Détermination structurale des composés isolés de *Scabiosa semipapposa*

Etude phytochimique de l'espèce *Scabiosa semipapposa*

La partie racine de *Scabiosa semipapposa* séchée et broyée a été macérée à température ambiante par un mélange hydroalcoolique (Méthanol/Eau : 80 : 20 V/V), Après filtration et concentration, **55 g** de l'extrait brut ont fait l'objet d'une chromatographie liquide sous vide (CLV) sur silice greffée C₁₈, avec le mélange H₂O/MeOH (70/30, 60/40, 40/60, 20/80, 0/100), pour donner cinq fractions A, B, C, D, E.

La purification de ces fractions a été effectuée par l'utilisation de différentes méthodes chromatographiques en phase normale sur gel de silice ou en phase inverse sur silice greffée C₁₈ (CCF, CLHP semi-préparative et CLHP préparative). Ainsi, **27** composés (**Sp1-Sp27**) été isolés, dont **16** saponines (Figure III-1), **4** iridoïdes, **3** lignanes et **4** phénols (Figure III-2).

Les structures de composés isolés ont été établies sur les molécules natives purifiées utilisant une méthode qui repose essentiellement sur l'analyse combinée des spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) monodimensionnels ¹H et ¹³C et à séquences multi impulsions à deux dimensions homo et hétéro-nucléaires (COSY, ROESY, NOESY, TOCSY, HSQC *J*- modulé, HSQC-TOCSY et HMBC) ainsi que sur l'analyse des spectres de masse et la mesure du pouvoir rotatoire. Ces techniques permettent de déterminer une structure complexe sans avoir recours aux hydrolyses partielles et/ou aux dérivatisations.

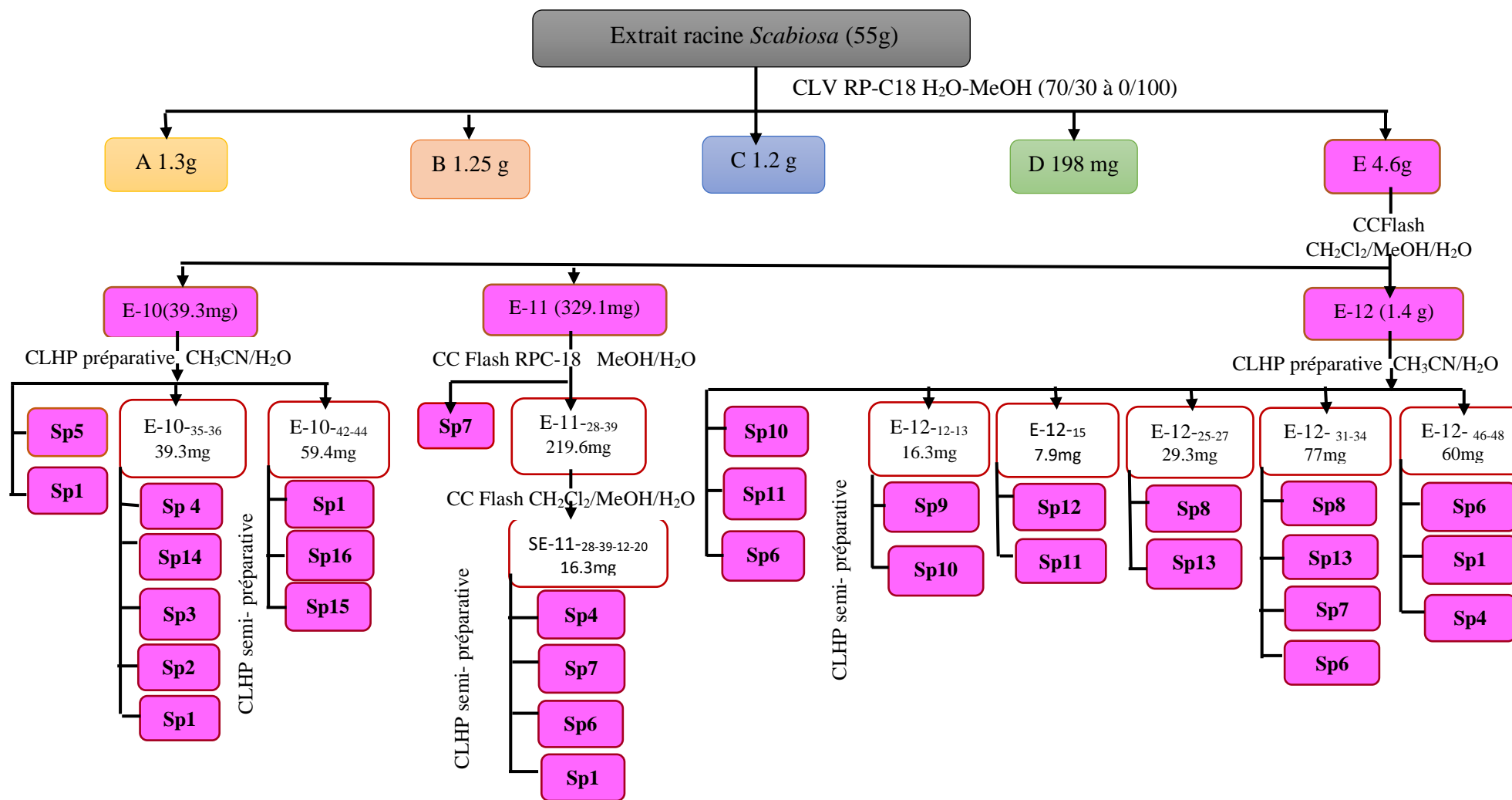


Figure III-1 : Schéma de purification des saponines isolées à partir des racines de *S.semipapposa*.

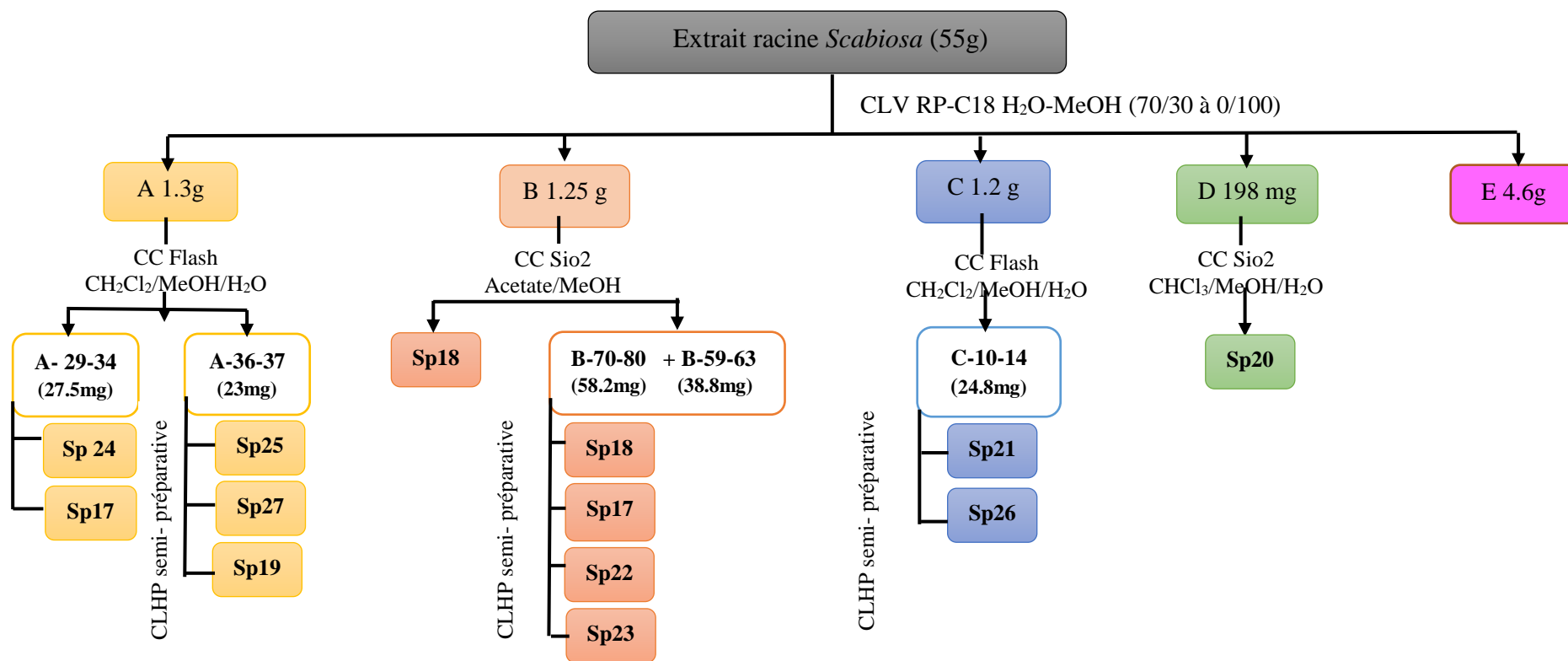
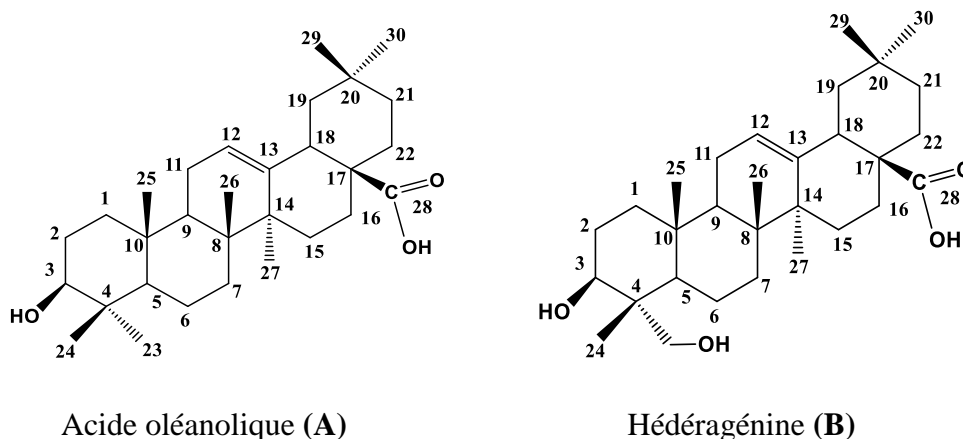


Figure III-2 : Schéma de purification des phénols, iridoïdes et lignanes isolés à partir des racines de *S.semipapposa*.

III.1.1 Elucidation structurale des saponines

Seize saponines **Sp (1-16)** ont été isolées à partir de la fraction E, dont treize sont de nouvelles structures. Selon la génine, ces saponines sont divisées en deux groupes ; des glycosides de l'acide oléanolique (**A**) (**Sp1-Sp8,Sp13-Sp16**) et de l'hédéragénine (**B**) (**Sp9-Sp12**) (Figure III-3).



Ce sont des bidesmosides substitués en position 3 par trois, six ou sept unités osidiques et par deux unités β -D-glucose en position 28.

Et selon la nature du sucre directement lié en position 3 de la génine, les saponines peuvent être classées en deux séries.

- Un β -D-Xylose pour la série 1 (Figure III-4).
- Un α -L-Arabinose pour la série 2 (Figure III-5).

L'hydrolyse acide de la fraction E a permis d'identifier cinq types d'unité osidique, il s'agit de l'arabinose, xylose, glucose, galactose et rhamnose. Les configurations absolues des sucres ont été déterminées à D pour le glucose, xylose, galactose et à L pour l'arabinose et le rhamnose grâce à la mesure des pouvoirs rotatoires qui sont en accord avec la littérature [Budaravi ., 1989].

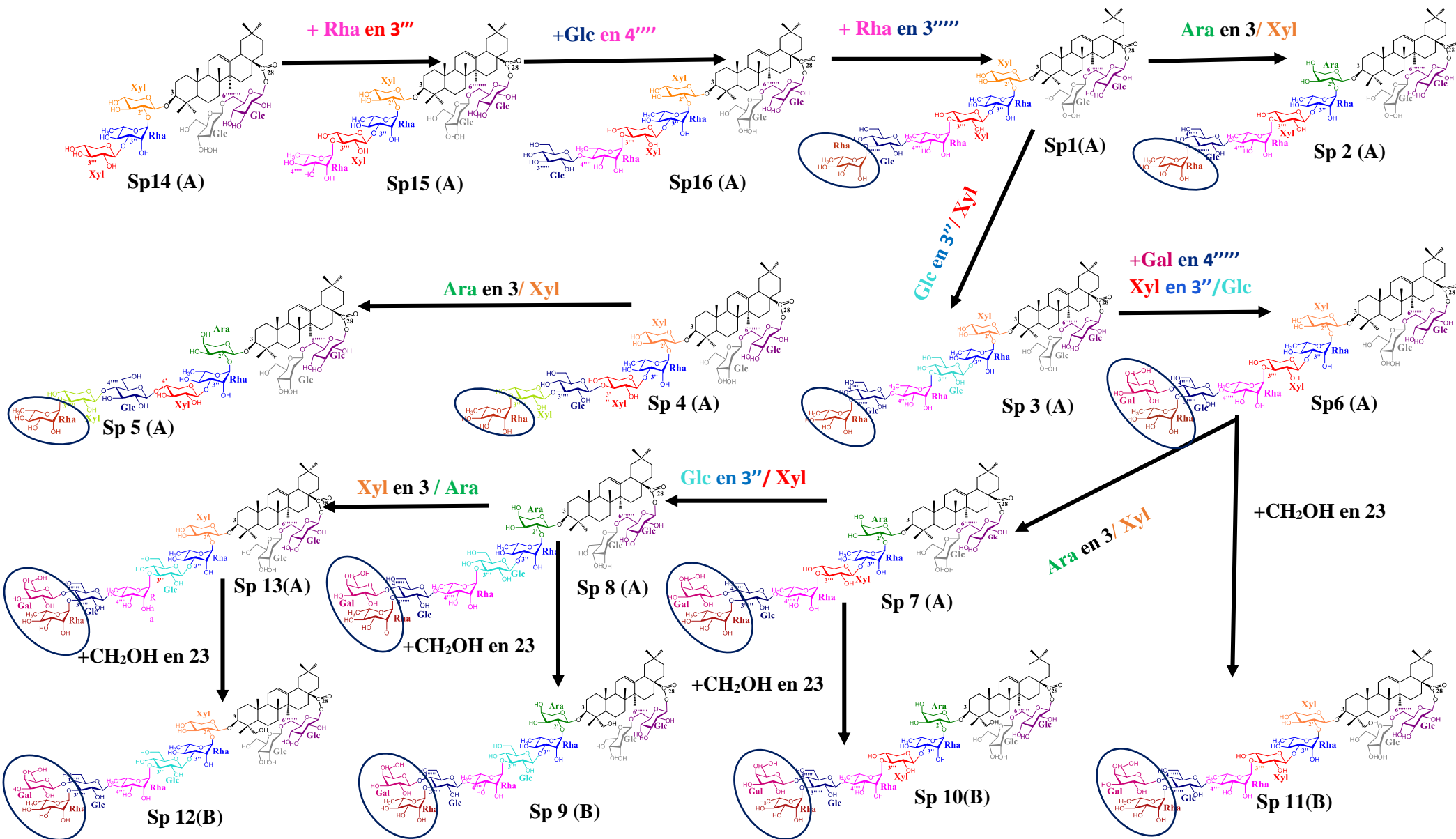


Figure III-3 : Structure des saponines isolés de *Scabiosa semipapposa* groupe (A) (Sp1-Sp8, Sp13-Sp16), groupe (B) (Sp9-Sp12).

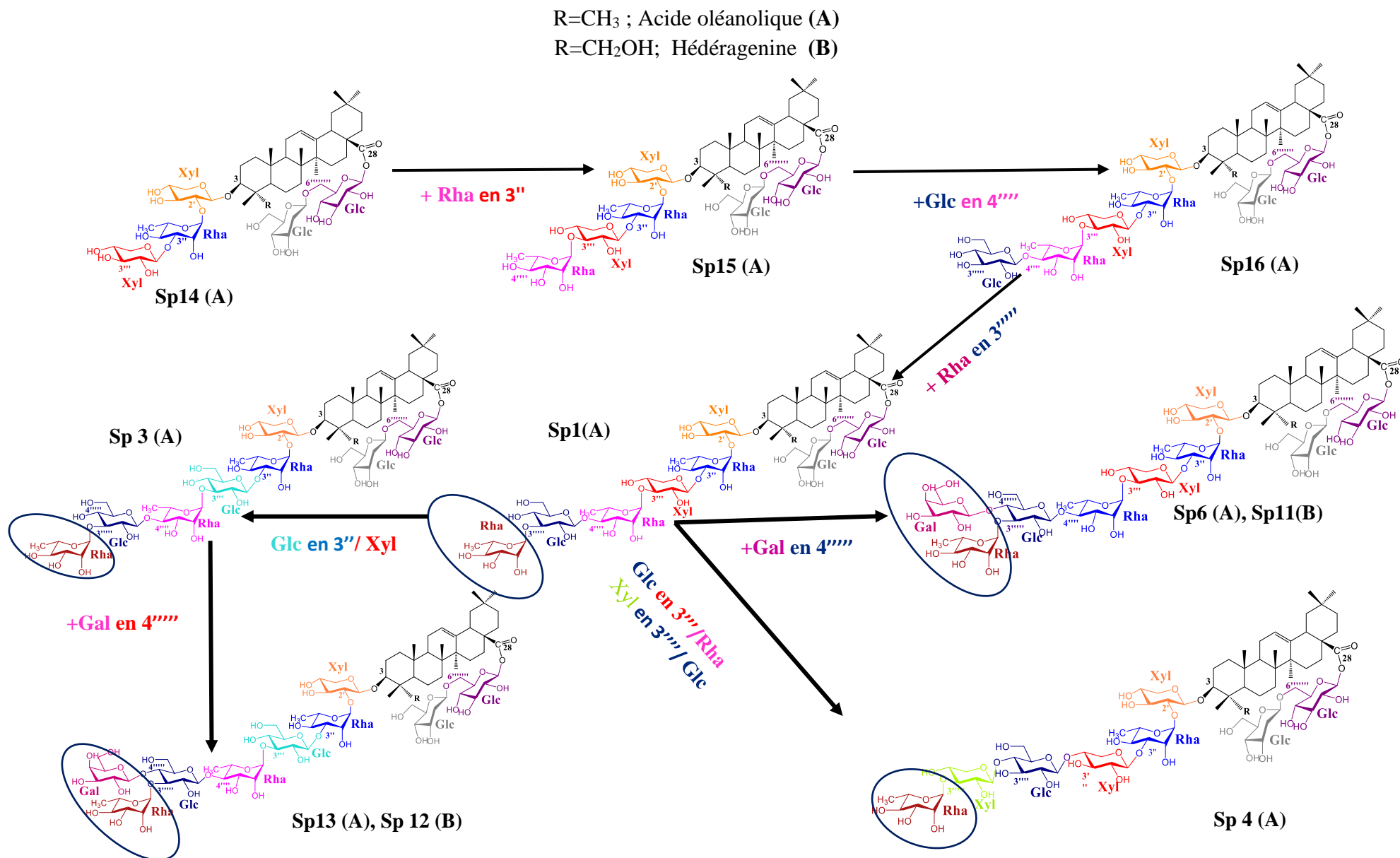


Figure III-4 : Structure de saponines isolées de *Scabiosa semipapposa* série 1(Sp1, Sp3, Sp6, Sp11-Sp13 nouvelles structures).

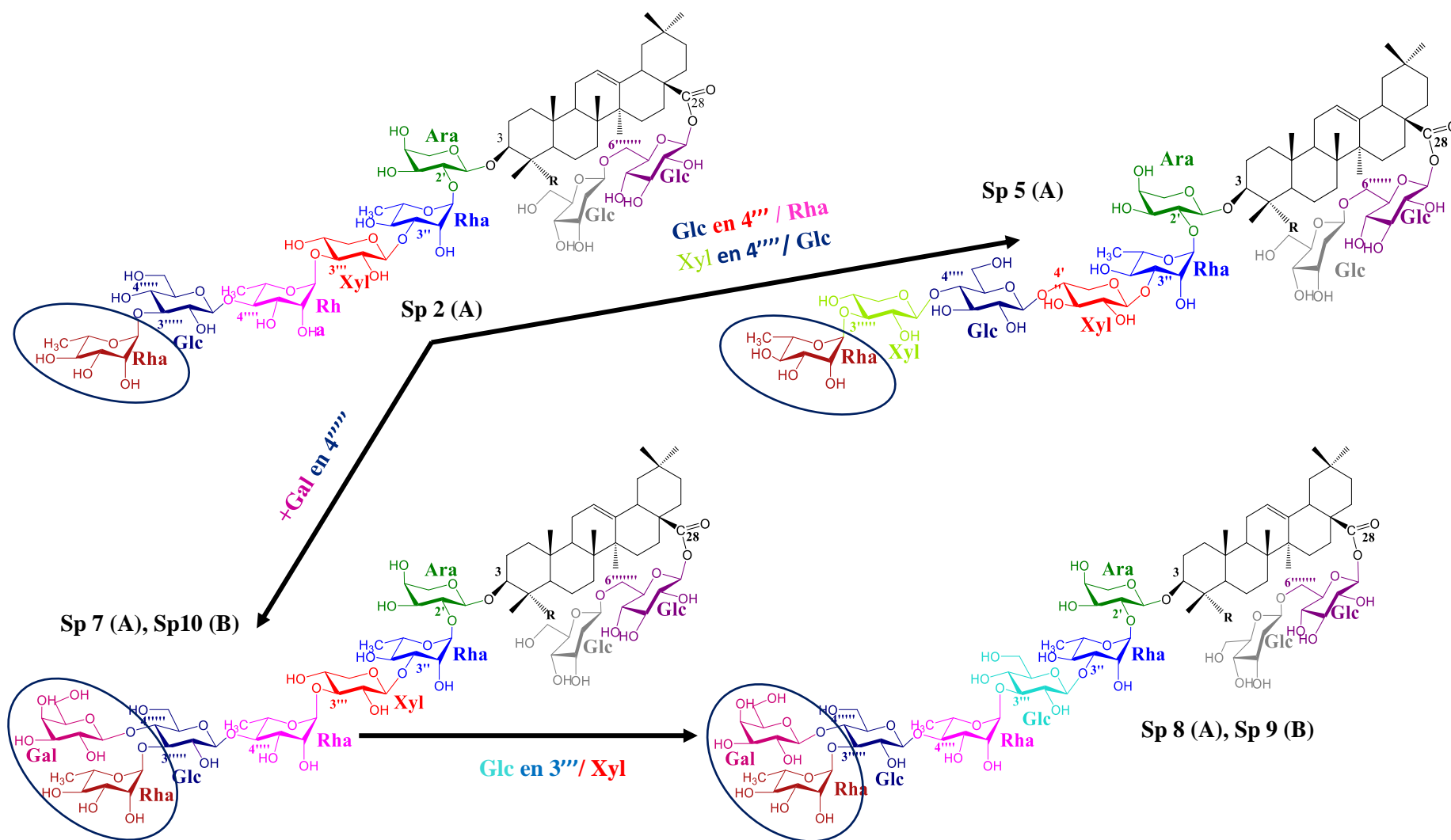


Figure III-5 : Structure des saponines isolées de *Scabiosa semipapposa* série 2(Sp2, Sp5, Sp7, Sp8, Sp9, Sp10) nouvelles structures.

Pour faciliter l'analyse structurale nous présenterons l'identification et l'attribution des protons et carbones des saponosides avec l'acide oléanolique comme génine (**Sp1-Sp8, Sp13**) en suite celles de l'hédéragénine (**Sp9-Sp12**) et on terminera avec celles possédants une structure connus (**Sp14-Sp16**).

III.1.1.1 Détermination structurale du composé Sp1

➤ Analyse du spectre de masse

L'analyse du spectre de masse à haute résolution obtenu en HR-ESI-MS mode positif du composé **Sp1** (Figure III-6) montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 1667,7667 $[M+Na]^+$ (calculé 1645,7849) soit une masse moléculaire égale à 1645 correspondant à une formule brute en $C_{76}H_{125}O_{38}$.

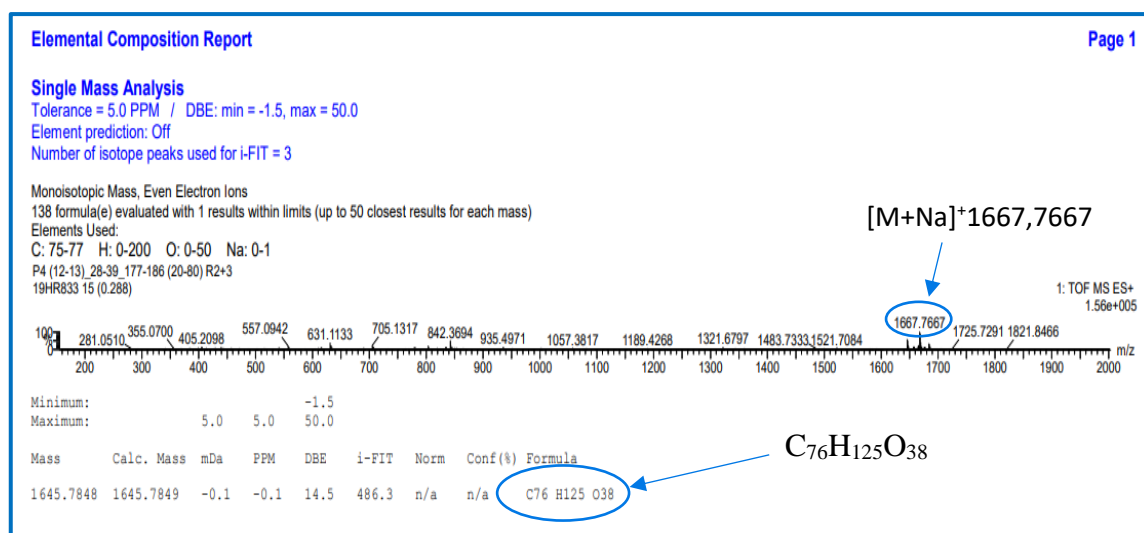


Figure III-6 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Sp1**.

➤ Analyse du spectre RMN ¹H

Le spectre RMN ¹H du composé **Sp1** (Figure III-7) montre des signaux caractéristique suivants:

- Sept signaux singulets d'intégration 3H chacun à champ fort entre 0,80-1,20 ppm correspondant à sept méthyles tertiaires angulaires d'un squelette triterpénique pentacyclique et résonant à δ_H 1,07(H-23), 0,88(H-24), 0,97(H-25), 0,82 (H-26), 1,17 (H-27), 0,93 (H-29), 0,96 (H-30).

- Un massif de protons résonants entre 0,80 et 2,10 ppm correspondant au groupements aliphatiques CH et CH₂ des cinq cycles.
- Un proton résonne à δ_H 3,14 ppm sous la forme de doublet de doublets (*dd*, $J=11,8 - 4,3$ Hz) correspond au H-3.
- Un signal déblindé sous forme d'un triplet à 5,27 ppm (*t*, $J= 3,7$ Hz) attribuable à un proton éthylénique H-12 signe de la présence d'une instauration Δ^{12-13} caractéristique d'un squelette oléanane.
- Un signal déblindé à δ_H 2,88 ppm attribuable au proton aliphatique H-18 sous forme d'un doublet de doublets (*dd*, $J= 13,7-4,2$ Hz) indiquant aussi la présence d'une génine de type oléanane.
- Plusieurs signaux dans la zone compris entre 3,0 et 4,20 ppm caractéristiques des groupements méthines hydroxylés des unités osidiques. Leur forte densité suggère la présence de plus de trois unités osidiques.
- La présence de huit protons anomériques résonants sous forme de doublets entre 4,3 et 5,4 ppm.

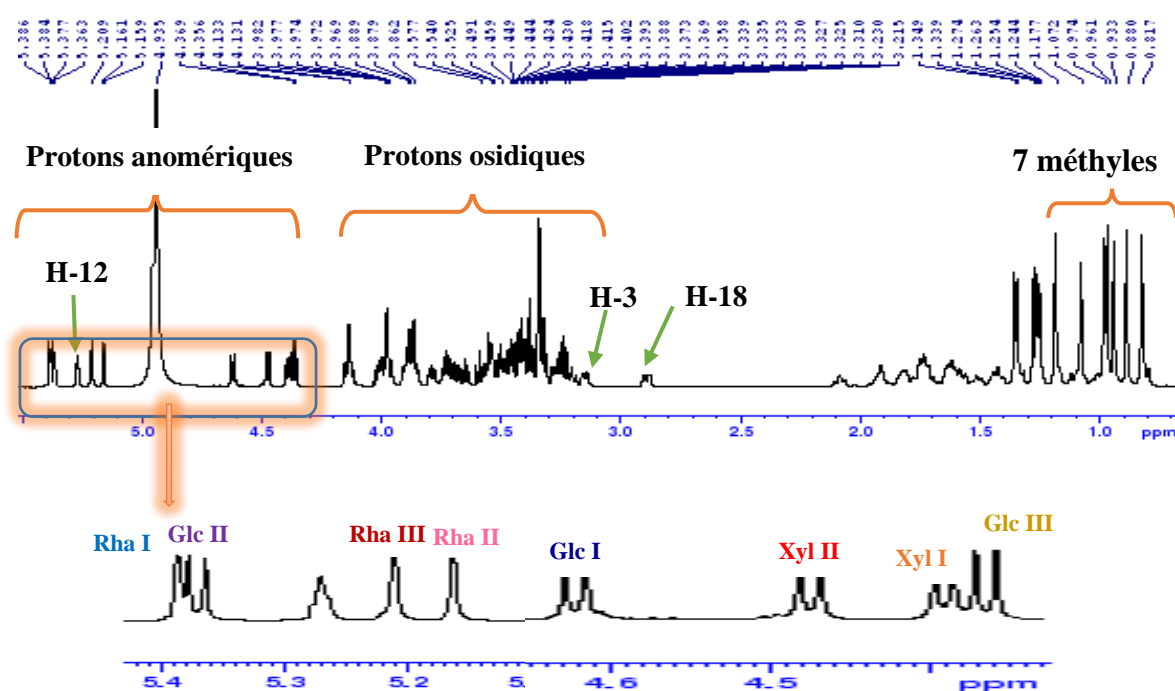


Figure III-7 : Spectre RMN ¹H du composé Sp1.

➤ **Analyse du spectre RMN ^{13}C et DEPT**

L'analyse du spectre de RMN ^{13}C et du DEPT du composé **Sp1** (Figure III-8) montre la présence de 76 carbones dont 30 sont attribués à l'aglycone et 46 au sucres. On distingue quelques carbones caractéristiques :

- Sept carbones méthyléniques caractéristiques du squelette triterpénique de type oléanane résonants entre 16,4 et 32,1 ppm. La présence seulement de sept méthyles suppose l'oxydation de l'un des huit méthyles constituant habituellement le squelette oléanane. L'observation d'un signal au-delà de 170 ppm sur le spectre RMN ^{13}C , laisse supposer que ce carbone est probablement oxydé en carbonyle.
- Un ensemble de carbones résonants entre 18,0 et 55,9 ppm correspond aux carbones aliphatiques CH, CH₂ et C quaternaires.
- Le carbone C-3 oxygéné est détecté à δ_{C} 88,8 ppm. Le déblindage de ce dernier comparé à celui du même carbone porteur d'un groupement hydroxyle (≈ 75), explique la substitution à ce niveau par des unités osidiques.
- Deux carbones éthyléniques C-12 et C-13 de la double liaison résonants à δ_{C} 122,4 et 143,5 ppm respectivement.
- Un signal blindé à δ_{C} 176,7 ppm correspond au carbonyle C-28. Le blindage de ce dernier comparé à celui du même carbone porteur d'un groupement acide libre (≈ 180 ppm) indique qu'il est engagé dans une liaison ester.
- Un ensemble de carbones résonants entre 60 et 84 ppm attribuables aux carbones osidiques.
- Un ensemble de carbones dont les déplacements chimiques se situent entre 94 et 105 ppm attribuables aux carbones anomériques.

L'ensemble de ces données spectrales indiquent qu'on est en présence d'une saponine triterpénique à squelette oléanane substitué par huit sucres.

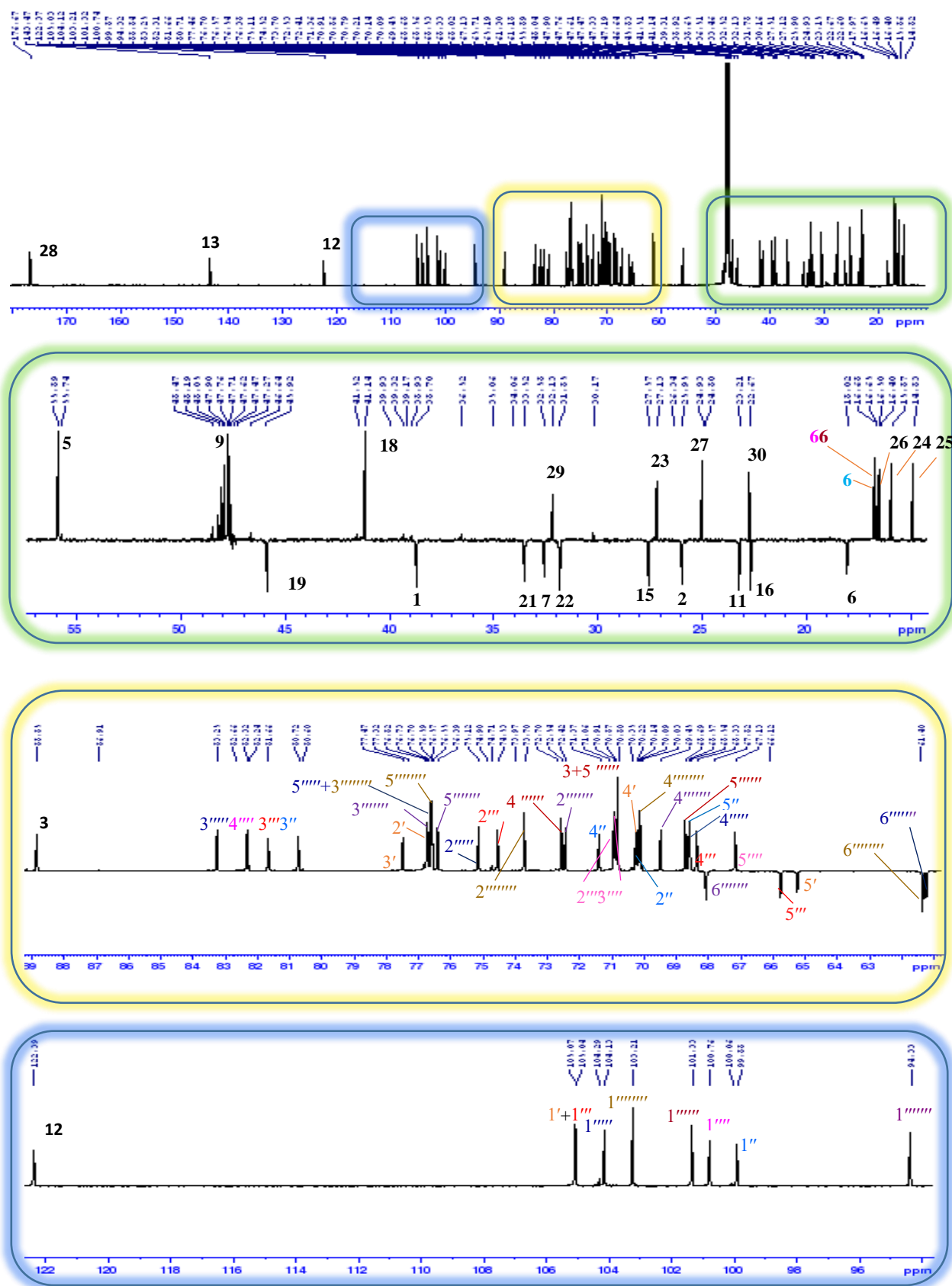


Figure III-8 : Spectre RMN ¹³C du composé Sp1.

➤ **Analyse des spectres RMN 2D**

❖ **Détermination de la partie aglycone**

L'attribution des protons et carbones de la génine est réalisée grâce à l'analyse conjointe des spectres RMN de corrélations COSY, ROESY, HSQC *J*-modulé, et HMBC

▪ **Analyse du spectre COSY**

À partir des protons caractéristiques identifiés précédemment, l'expérience COSY (Figure III-9 et III-10) permet de localiser la plupart des protons non analysables directement sur le spectre de RMN ^1H apparaissant entre 0.93 et 1.91 ppm. En effet :

- Le proton H-3 déjà identifié corrèle avec deux protons à δ_{H} 1,70 et 1,82 attribuables aux protons H_{a,b}-2, ces derniers corrélient à leur tour avec les deux protons H_{a,b}-1 résonant à δ_{H} 1,00 et 1,63ppm .
- À partir de leur corrélation avec le proton vicinale H-12 les deux protons géminés H-11_{a,b} sont localisé à δ_{H} 1,91 ppm.
- Le proton H-9 vicinale est localisé à δ_{H} 1,59 ppm par son corrélation avec les protons H-11.
- Le proton H-18 montre des corrélations avec les deux protons géminés H-19_{a,b} à δ_{H} 1,17 et 1,73 ppm. Le proton H-19 présente une autre corrélation avec le méthyle situé à δ_{H} 0.96 ppm attribuable à celui en position 30 qui est à son tour corrélie avec le méthyle en position 29 résonant a δ_{H} 0.93 ppm.

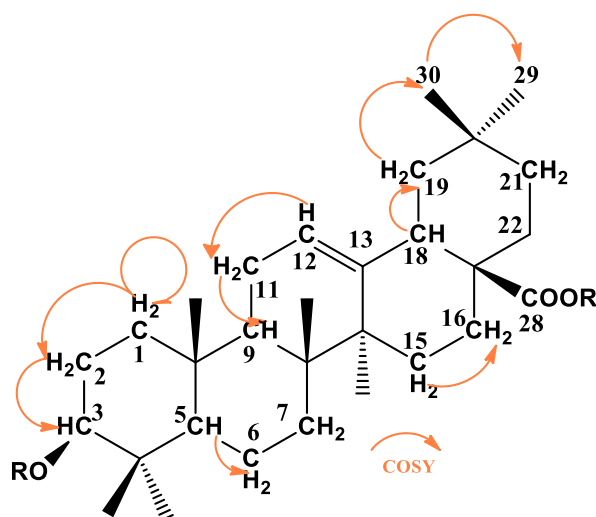


Figure III-9 : Corrélations $^3J_{\text{H-H}}$ observés sur le spectre COSY du composé.

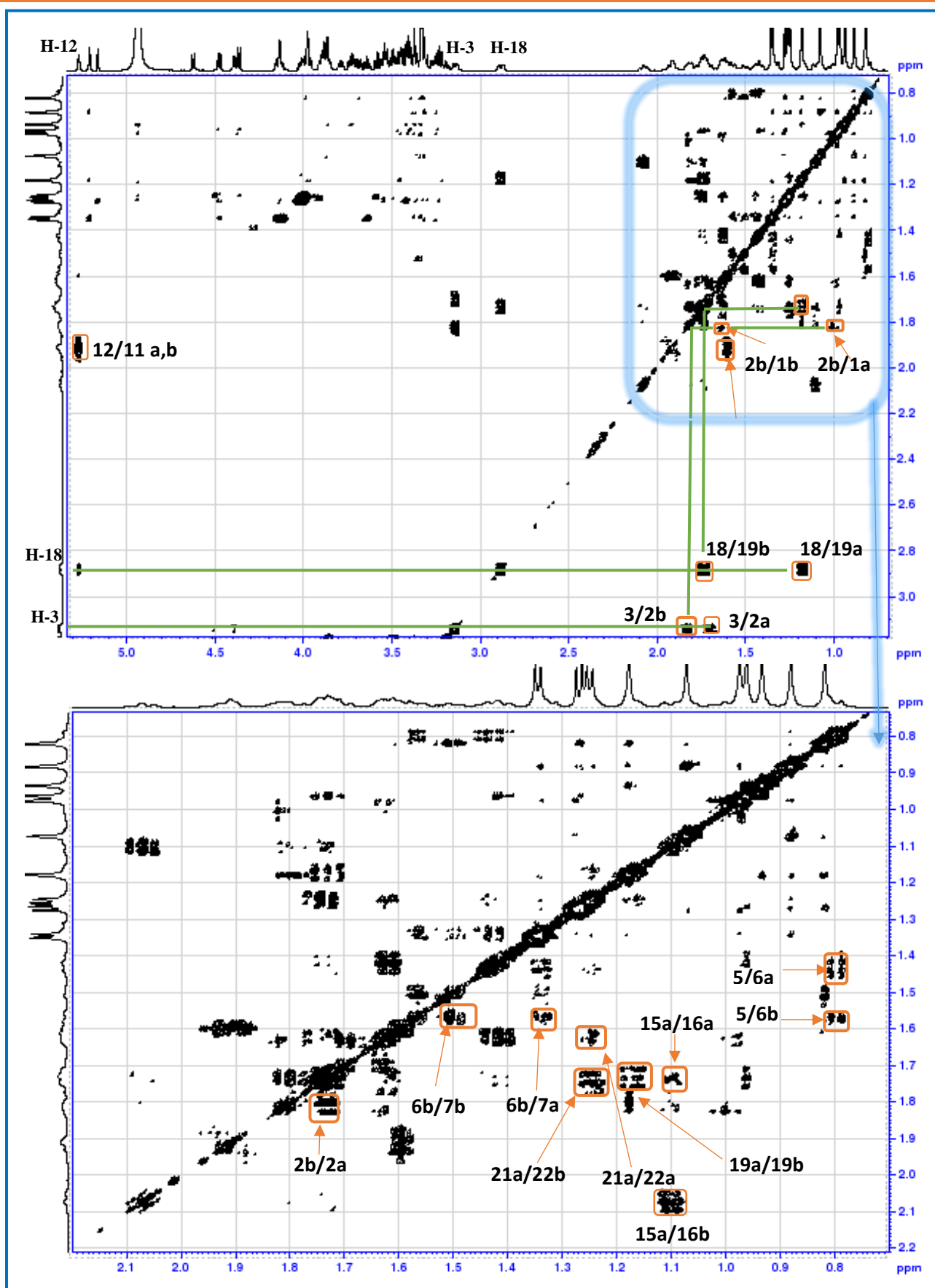


Figure III-10 : Spectres COSY de la partie génère du composé Sp1.

■ Analyse du spectre HSQC

À partir des protons déjà identifiés, l'analyse des corrélations hétéronucléaires directes $^1J_{H-C}$ observées sur le spectre HSQC J -modulé (Figure III-11) conduit à assigner les déplacements chimiques des carbones δ_C qui les portent (Tableau III-1):

- Le carbone C-1 (δ_C 38,7 ppm), C-2 (δ_C 25,9 ppm), C-3 (δ_C 88,8 ppm), C-9 (δ_C 47,8 ppm), C-11 (δ_C 23,2 ppm), C-12 (δ_C 122,4 ppm), C-18 (δ_C 41,1 ppm), et C-19 (δ_C 45,8 ppm), C-30 (δ_C 22,7 ppm) et C-29 (δ_C 32.1 ppm).

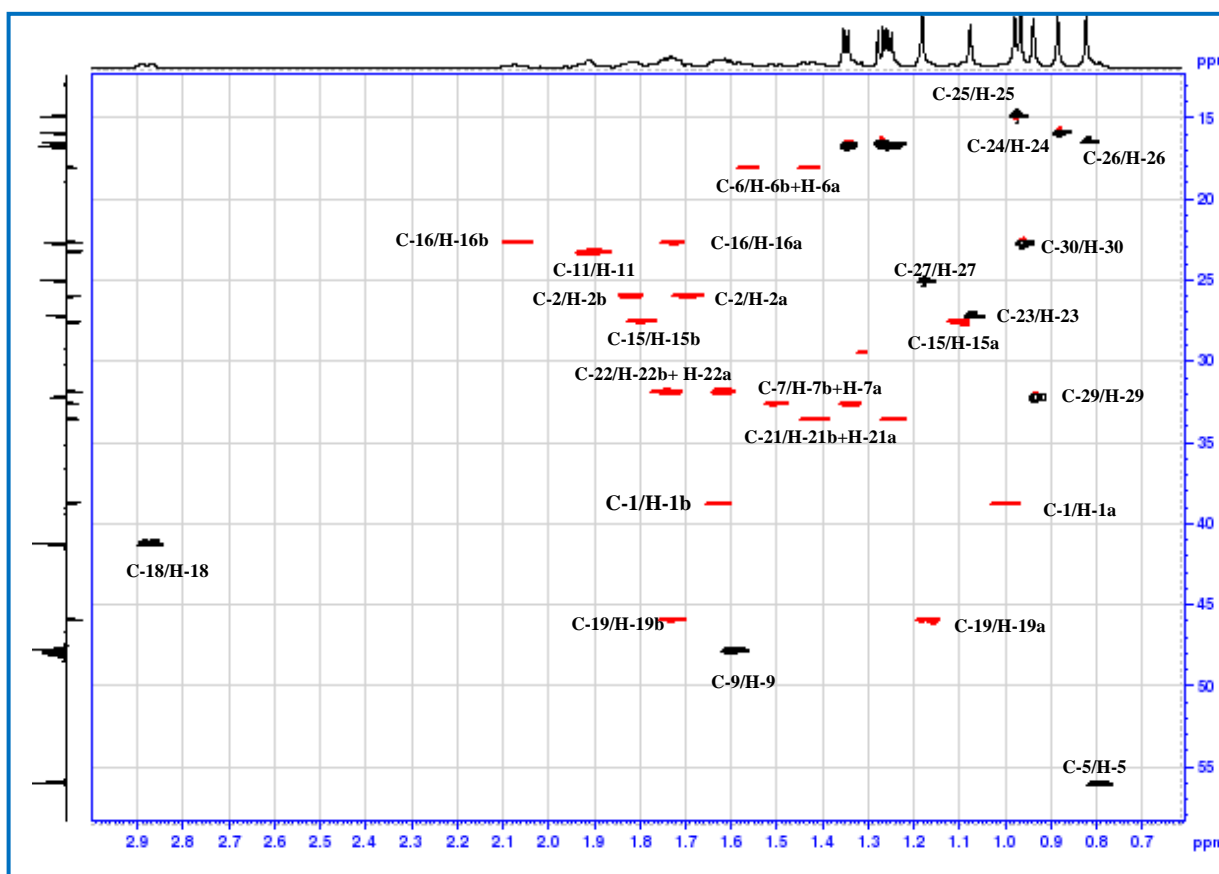


Figure III-11 : Spectre HSQC de la partie génine du composé Sp1.

■ Analyse du spectre HMBC

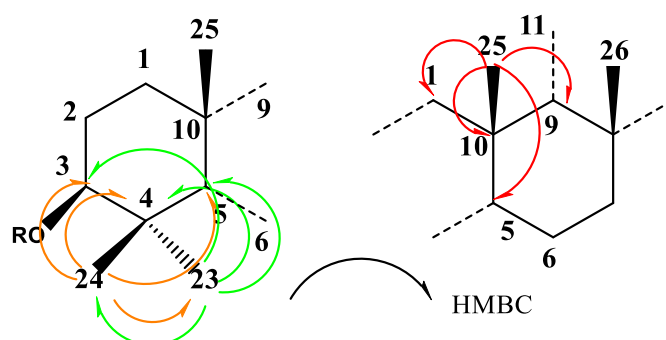
L'expérience HMBC (Figure III-12) qui visualise les couplages hétéronucléaires à distance de deux ou trois liaisons ($^2J_{H-C}$, $^3J_{H-C}$), permet l'attribution des méthyles et les autres carbones de la génine. Dans cette expérience, les protons méthyléniques corréleront au maximum avec quatre carbones constituant le squelette de la base carbonée qui les porte. On reconnaît ainsi les corrélations suivantes :

Les méthyles 23 et 24 sont repérés à δ_H 1,07, et 0,88 ppm par leur corrélation avec le carbone C-3 connu, la distinction entre ces derniers s'effectue grâce à la différence des valeurs de leurs

déplacements chimiques. En effet, sur le spectre HSQC le carbone α -équatoriale CH₃-23 (δ_C 27,1) est plus déblindé que le carbone β -axial CH₃-24 (δ_C 15,9).

En plus de leurs corrélations mutuelles les méthyles 23 et 24 couplent également avec le carbone quaternaire C-4 (38,9 ppm), et le carbone C-5 (55,9 ppm). L'attribution de ces deux carbones est facile vue que le carbone C-4 est quaternaire et ne présente aucune corrélation sur le spectre HSQC (Figure III-11) alors que le C-5 est un CH.

- Le carbone C-5 corrèle avec les protons méthyliques en 25. Ceux-ci couplent avec les carbones C-1 (38,7 ppm), C-10 (36,5 ppm) et C-9 (47,8 ppm).



Correlations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ des protons 23, 24 et 25 observés sur le spectre HMBC.

- Après l'attribution du proton H-5 (δ_H 0,80 ppm) à son carbone sur le spectre HSQC, les deux protons géminés H-6_{a,b} et H-7_{a,b} sont localisés grâce aux corrélations observées sur le spectre COSY entre le H-5 et H-6_{a,b} et entre H-6_{a,b} et H-7_{a,b} (Figure III-10).
- Le carbone C-9 couple avec les protons H-26 situés à δ_H 0,82 ppm qui présentent à son tour des corrélations avec le carbone C-7 (δ_C 32,5 ppm) et les carbones quaternaires C-14 (δ_C 41,5 ppm) et C-8 (δ_C 39,3 ppm), eux même couplant avec les protons méthyliques en 27. Ces derniers corrélient également avec le deuxième carbone éthylénique quaternaire C-13 résonant à 143,5 ppm et le carbone situé à δ_C 27,5 ppm attribuable au carbone C-15.
- Après l'attribution des protons H-15_{a,b} à leur carbone sur le spectre HSQC/J-modulé l'expérience COSY et à partir du H-15 a permis de localiser les deux protons géminés H-16_{a,b} situés à δ_H 1,73 et 2,07 ppm, le carbone respective C-16 est attribué après l'analyse de l'expérience HSQC/J-modulé à δ_C 22,6 ppm.
- L'expérience HMBC montre des corrélations du carbone C-19 déjà identifié avec les protons H-29 à δ_H 0,93 ppm et H-30 à δ_H 0,96 ppm, ces deux protons présentent des corrélations entre eux même, avec le carbone quaternaire C-20 (δ_C 30,2 ppm) et le carbone C-21 (δ_C 33,5 ppm).

- A partir du carbone C-21 l'analyse de l'expérience HSQC *J*-modulé permet d'attribuer ses protons (Figure III-11). Ceci permet de localiser d'après le spectre COSY, les protons H-22_{a,b} à δ_H 1,62 et 1,73 ppm (Figure III-10). Le carbone C-22 (δ_C 31,8ppm) est attribué par l'analyse de son corrélation sur l'expérience HSQC *J*-modulé.
- L'analyse du spectre HMBC (Figure III-13) montre également une tache de corrélation entre le proton H-18 déjà identifié et un carbone quaternaire résonant à δ_C 46,6 attribué au carbone C-17.

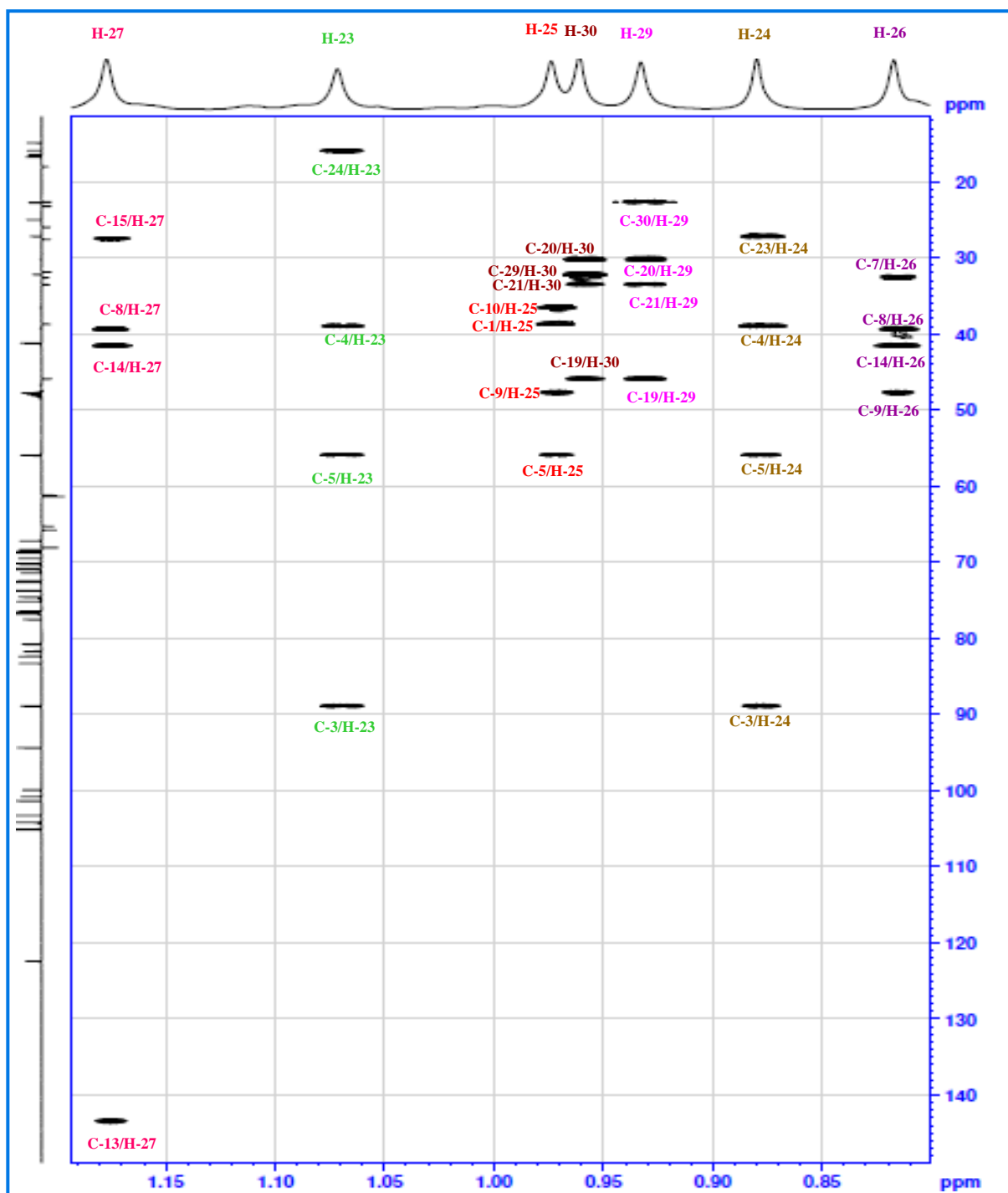


Figure III-12 : Spectre HMBC du composé Sp1 (zone des méthyles).

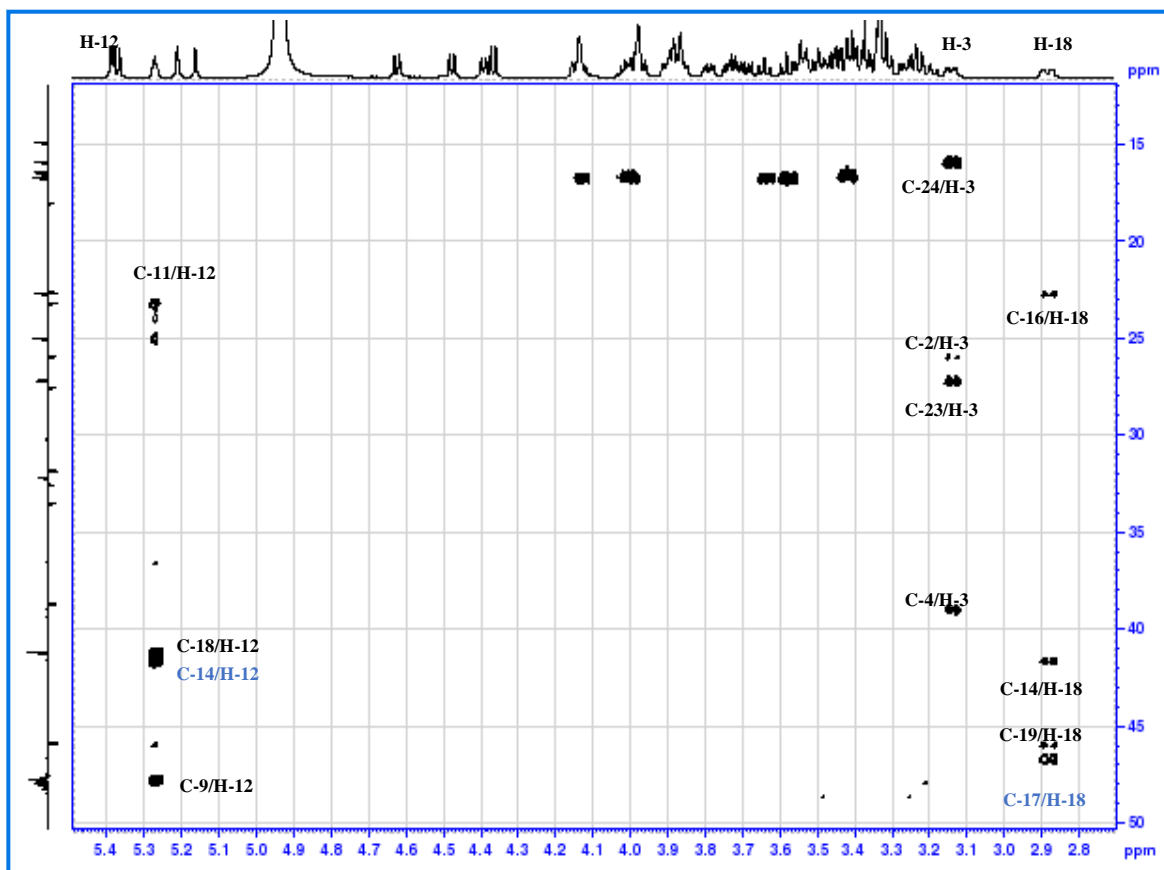
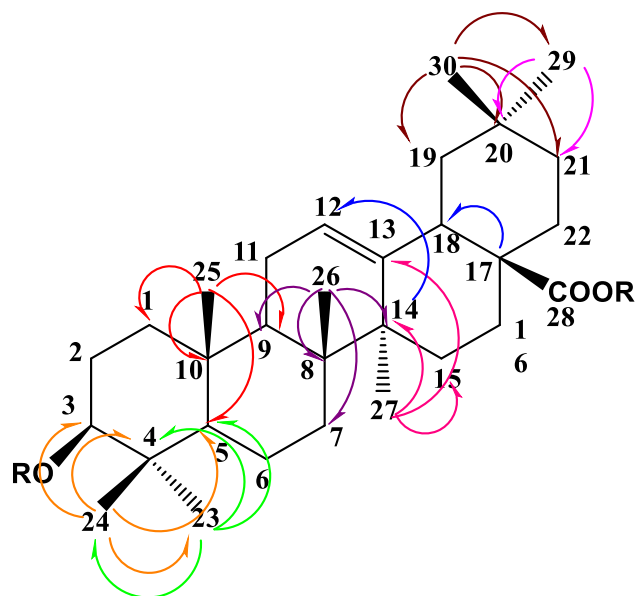


Figure III-13 : Spectre HMBC[15.0-50.0, 2.7-5.5ppm] du composé Sp1.



Importantes corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ observées pour le composé Sp1.

■ Analyse du spectre ROESY

La stéréochimie des carbones asymétriques de la génine est déterminée par analyse des valeurs des constantes de couplage mesurée sur le spectre RMN ^1H et des effets rOe observés sur le spectre ROESY obtenus avec l'expérience de RMN bidimensionnelle homonucléaire ROESY (Figure III-14)

- La stéréochimie α -axiale du proton H-3 confirmée par l'effet rOe observé entre protons H-3/H-5 et H-3/H-23 et la grande constante de couplage $^3J_{3\text{ax}-2\text{ax}} = 11,8\text{ Hz}$.
- Une orientation β -axiale du proton H-18 est confirmée par l'effet rOe qu'il présente avec le proton H-12 et les protons du méthyle β -axial CH₃-30, et par la grande constante de couplage $^3J_{18\text{ax}-19\text{ax}} = 13,7\text{ Hz}$
- Les effets rOe observés entre les protons H-24, H-25 et H-26 confirme leur orientation β -axial.

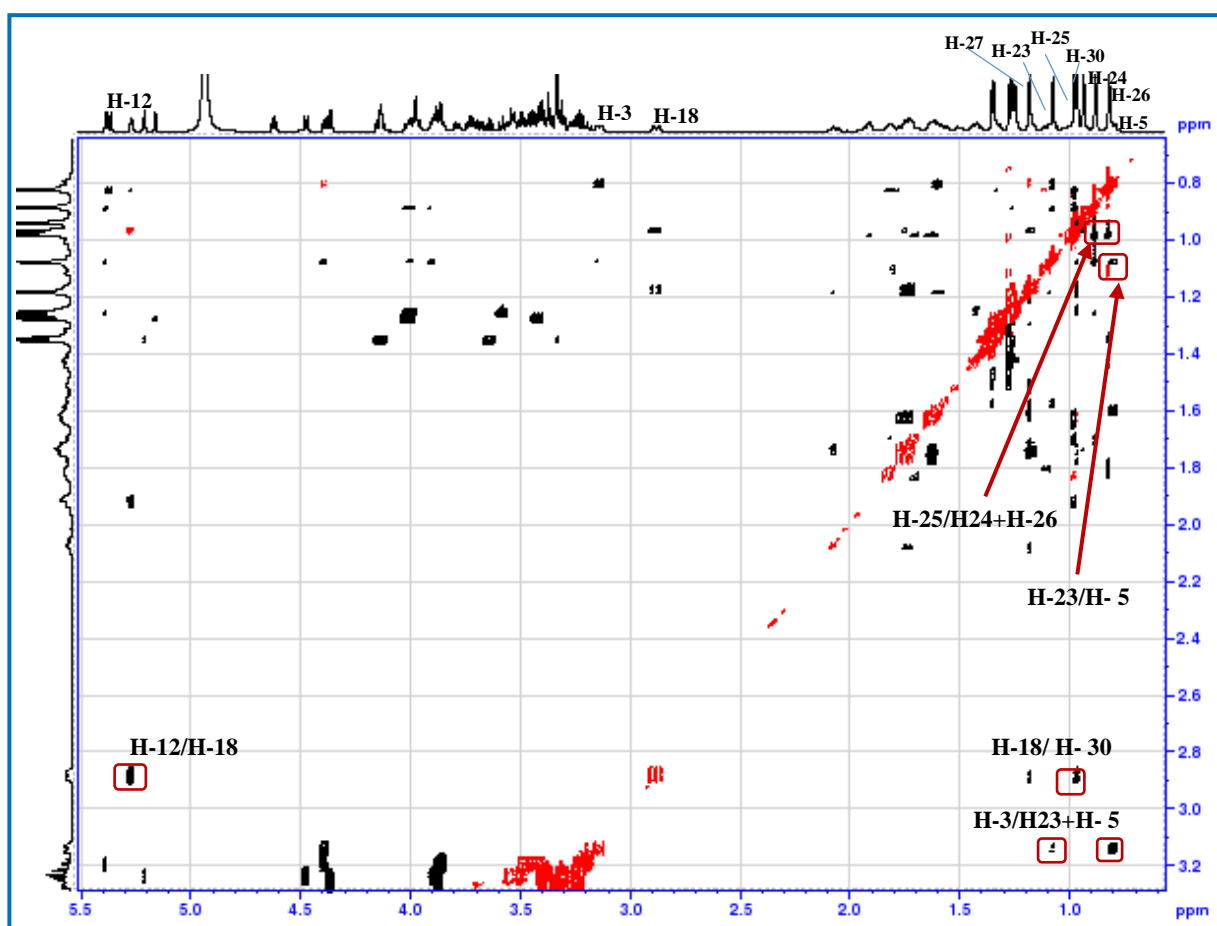
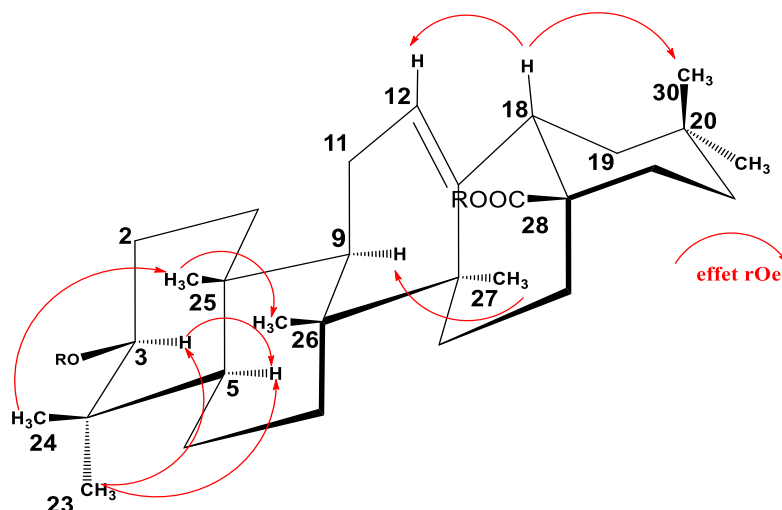
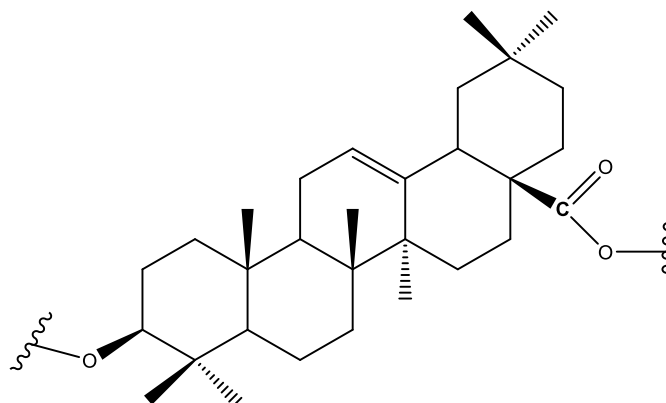


Figure III-14 : Spectre ROESY de la partie génine du composé Sp1.

Corrélation ROESY de la partie génine du composé **Sp1**.

L'ensemble des données RMN 1D et 2D analysées permet d'attribuer sans ambiguïté une structure triterpénique de type oléanane [Mahato et Kundu., 1994 ;Boutaghane et al., 2013] à la génine du composé **Sp1**.

Structure de la partie génine du composé **Sp1** (Acide oléanolique).

Détermination de la partie osidique

L'étude du spectre RMN ^1H montre l'existence de huit signaux sous forme de doublet appartenant aux protons anomériques, résonnants à δ_{H} 4,36 ppm (d , $J=7,6$ Hz), δ_{H} 4,39 ppm (d , $J=7,2$ Hz), δ_{H} 4,62 ppm (d , $J=7,9$ Hz), δ_{H} 4,47 ppm (d , $J=7,7$ Hz), δ_{H} 5,16 ppm (d , $J=1,7$ Hz), δ_{H} 5,21 ppm (d , $J=1,1$ Hz), δ_{H} 5,37 ppm (d , $J=8,3$ Hz) et δ_{H} 5,38 ppm (d , $J=1,5$ Hz). Ces protons donnent sur le spectre HSQC J -modulé (Figure III-15) des corrélations $^1J_{\text{H-C}}$ avec les carbones anomériques à δ_{C} 103,2, 105,0, 104,1, 105,0, 101,3, 100,7, 94,3, et 99,9 ppm.

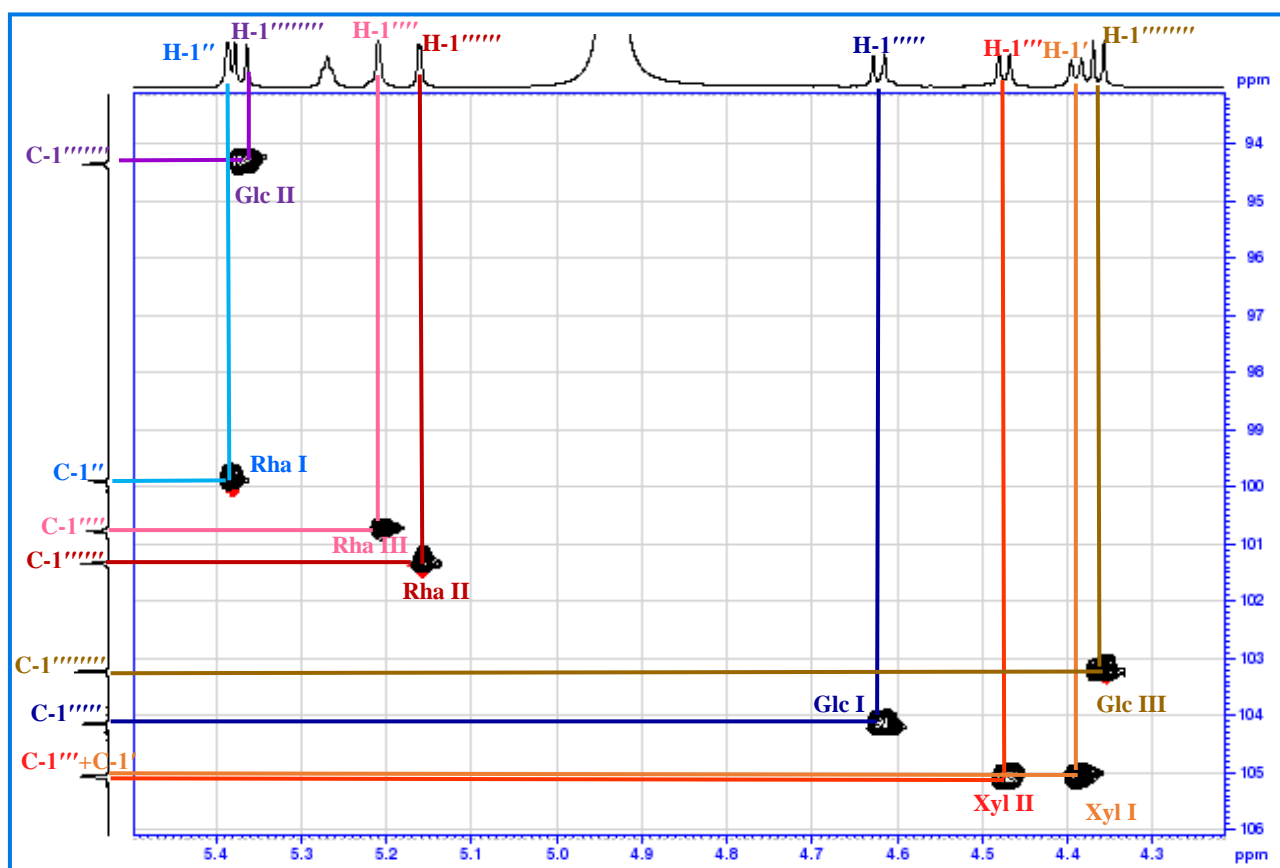


Figure III-15 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp1**.

L'ensemble des expériences RMN1D et 2 D (COSY, TOCSY, HSQC J-modulé, HMBC, et ROESY) contribuent à la caractérisation de :

- Deux β -D Xylose (Xyl I, Xyl II).
- Trois α L-Rhamnose (Rha I, Rha II et Rha III).
- Trois β -D Glucose (GLc I, Glc II et Glc III).

➤ Séquençage osidiques en C-3

- Analyse des spectres COSY, HSQC et ROESY
- Identification du Xylose I

L'analyse des spectres COSY et TOCSY (Figure III-17 et Figure III-16) montre six protons osidiques couplés appartenant à un pentose dont l'anomère résonne à 4,53 ppm couple avec H-2' (δ_H 3,41, *dd*, $J=8,5-7,2$ Hz) lui-même couplé avec le proton H-3' (δ_H 3,45, *t*, $J=8,5$ Hz) qui présente de son côté une corrélation avec H-4' résonnant sous forme d'un multiplet à δ_H 3,47 ppm. Ce dernier quant à lui corrèle avec les deux protons géminés H-5a' (δ_H 3,19, *dd*, $J=11,6-9,8$ Hz) et H-5b' (δ_H 3,84, *dd*, $J=11,6-5,0$ Hz). Les constantes de couplage vicinales mesurés $J_{H-1'-H-2'}$, $J_{H-2'-H-3'}$, $J_{H-3'-H-4'}$, $J_{H-4'-H-5a'}$, sont toutes supérieures ou égales à 7Hz indiquant ainsi une position transdiaxiale de ces protons caractéristique un β -D-Xylose.

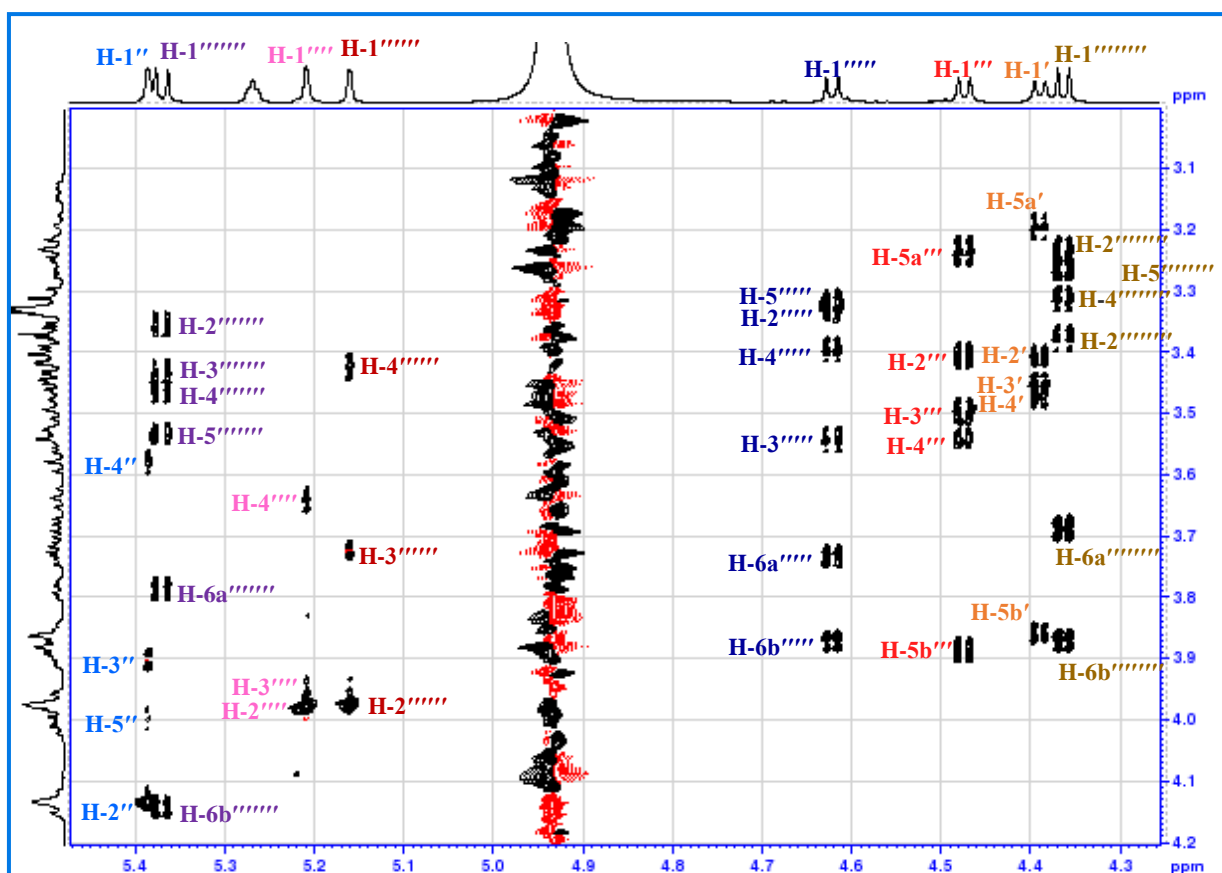


Figure III-16 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp1.

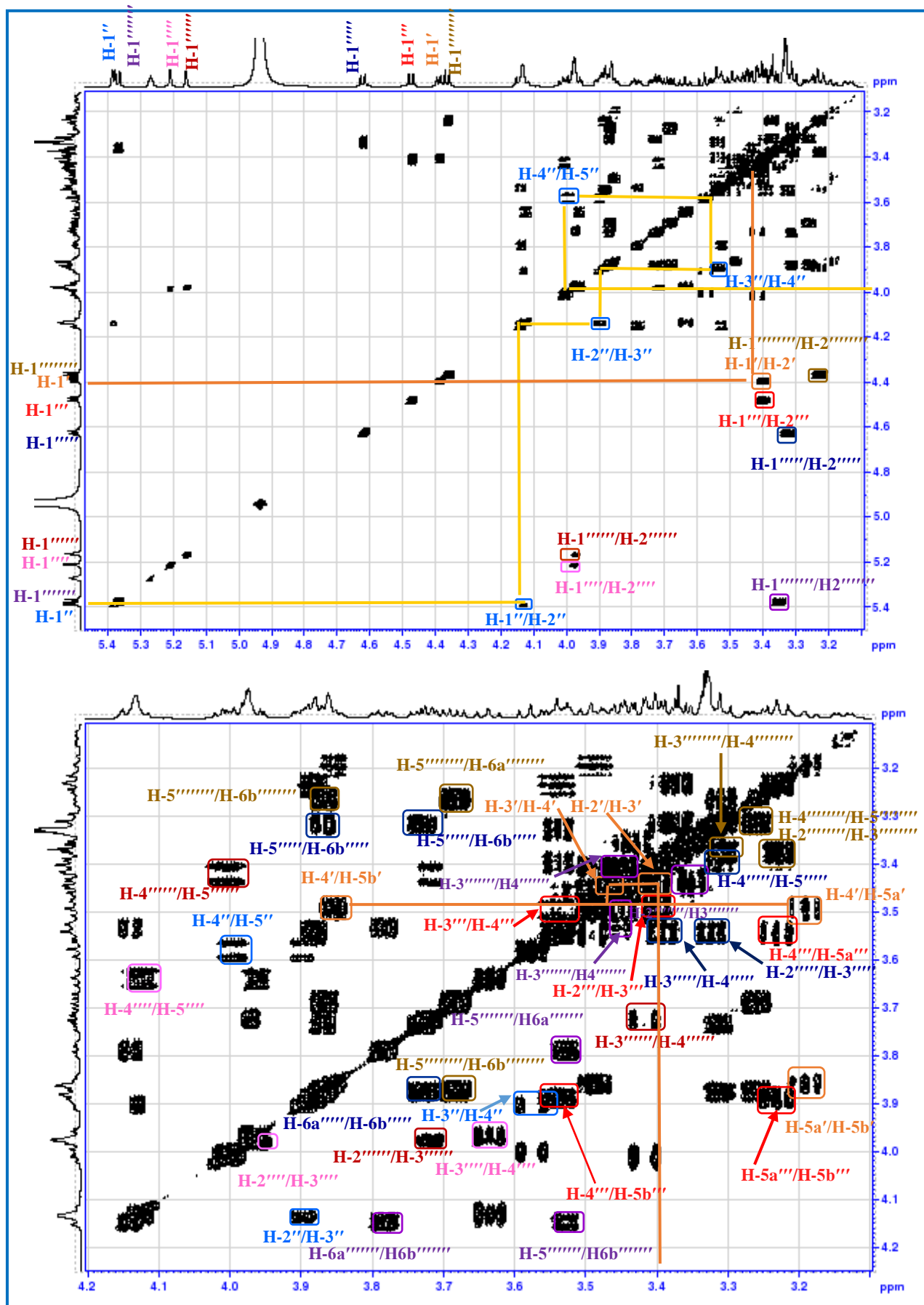
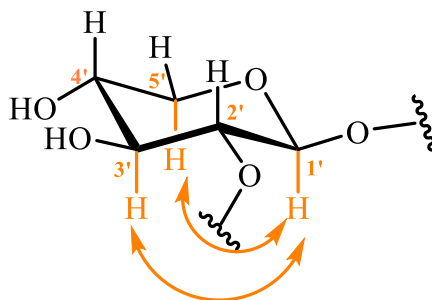


Figure III-17 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp1.

L'expérience ROESY (Figure III-18) montre un effet rOe entre les protons, H-1'/H-3', H-1'/H-5' confirmant la configuration β de ce Xylose.



Corrélations ROESY du β -D-xylose.

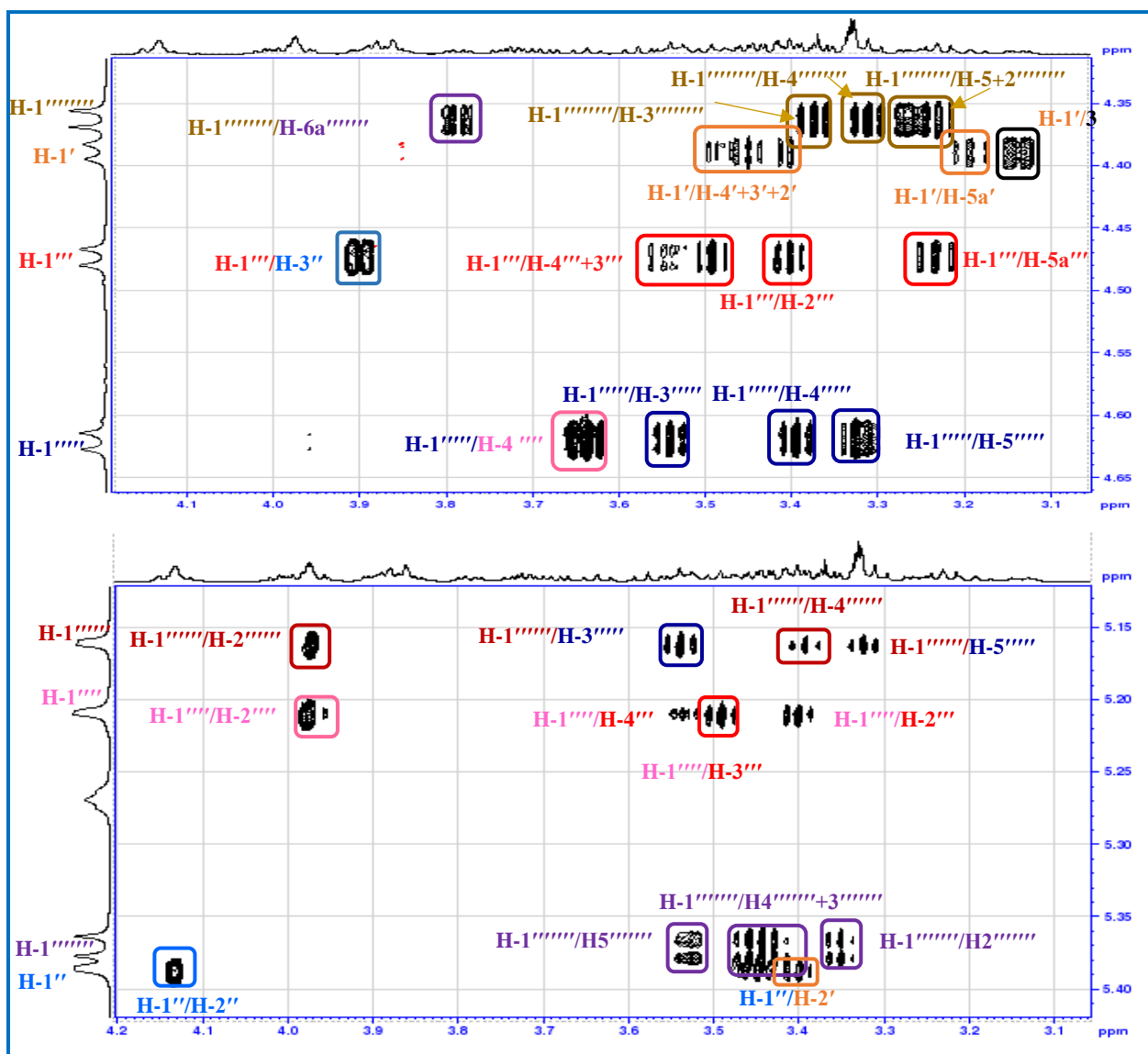


Figure III-18 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp1.

Les valeurs des déplacements chimiques des carbones de ce xylose ($\delta_{\text{C}} 105,0, 76,7, 77,5, 70,1$ et $65,2$ ppm respectivement) déterminées à partir de l'analyse du spectre HSQC *J*-modulé (Figure III-19, Tableau III-1) sont en accord avec celles d'un β -D-Xylose substitué en C-2' [Lehbili et al., 2018a].

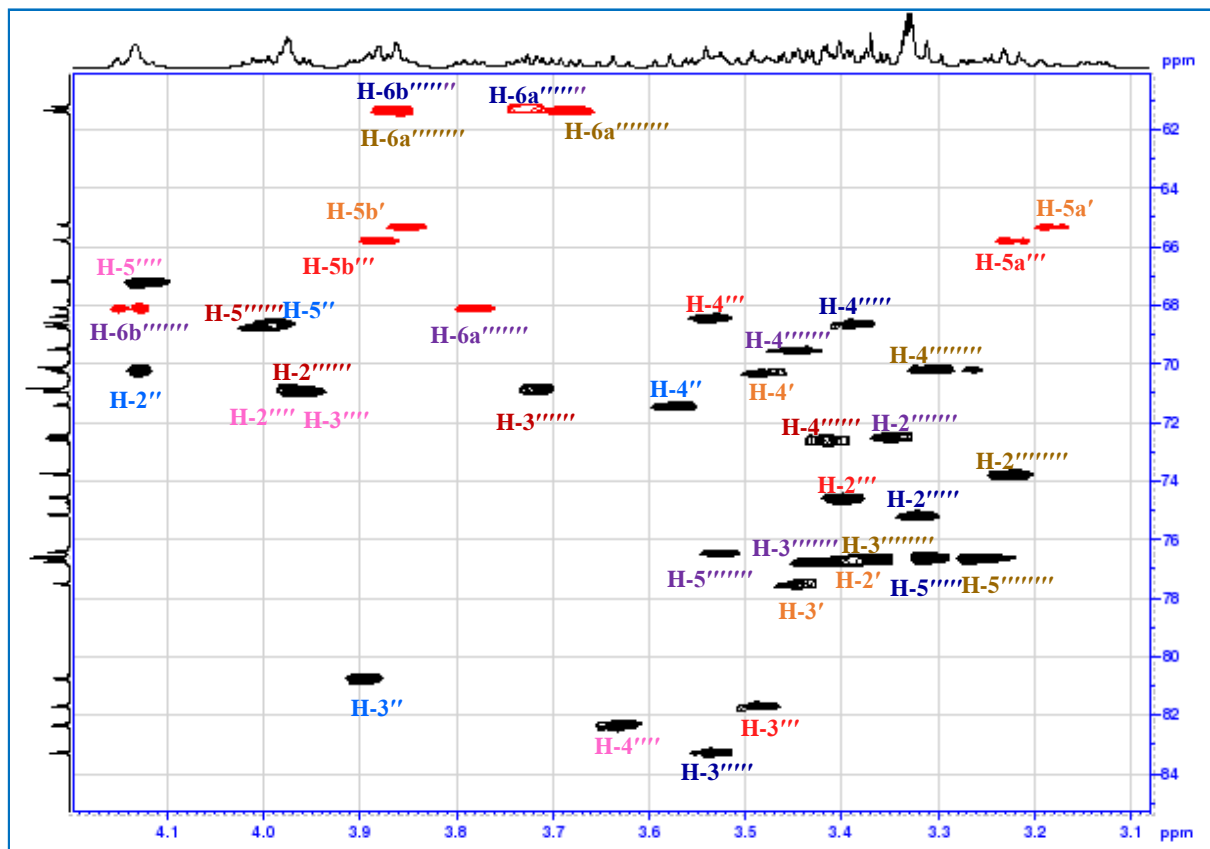


Figure III-19 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp1.

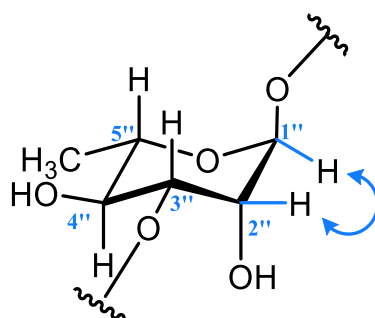
■ Identification du Rhamnose I

En partant du deuxième proton anomérique H-1'' à $\delta_{\text{H}} 5,38$ ($d, J=1,5$ Hz) un système de huit spins appartenant à un 6-désoxy-hexose est identifié. L'analyse des spectres TOCSY et COSY (Figure III-16, III-17) permet de repérer les signaux de tous les protons. En effet, elle met en évidence les couplages entre :

Le proton H-1'' et le proton H-2'' ($dd, J = 3,1 - 1,5$ Hz), lui-même corrélé avec le proton H-3'' ($\delta_{\text{H}} 3,90$, $dd, J=9,5-3,1$ Hz), ce dernier couple avec le proton H-4'' résonant sous forme d'un triplet à $\delta_{\text{H}} 3,57$ ppm ($J = 9,5$ Hz) et qui présente une corrélation avec le proton H-5'' localisé à $\delta_{\text{H}} 4,00$ ppm. Les protons H-3-6'' intégrant pour trois protons sous la forme d'un doublet à $\delta_{\text{H}} 1,25$ ppm ($J = 6,2$ Hz) couplés avec le proton H-5''. Les grandes constantes de couplage $J_{\text{H-3''-H-4''}}$ et $J_{\text{H-4''-H-5''}} = 9,5$ Hz attestent une position axial de ces protons, alors que les faibles constantes de

couplage $J_{H-1''-H-2''} = 1,5$ Hz et $J_{H-2''-H-3''} = 3,1$ Hz révèlent une position équatoriale du proton H-2''.

Les valeurs des déplacements chimiques des carbones de ce 6- désoxy-hexose indiquent qu'il s'agit d'un rhamnose. L'absence des effets rOe sur le spectre ROESY, entre le proton H-1'' et les protons H-3'' et H-5'' et la présence d'un effet rOe entre le proton H-1'' et H-2'', indiquent une configuration α pour l'anomère. Il s'agit donc d'un α -L-rhamnose.



Corrélations ROESY du α -L-rhamnose

L'attribution des valeurs des déplacements chimiques des carbones après l'analyse du spectre HSQC J -modulé (Tableau III-2, Figure III-19) indique que le carbone C-3'' est déblindé à 80,7 ppm est en faveur avec une substitution en cette position [Rezgui et al., 2016].

▪ Identification du Xylose II

Le deuxième β -D Xylose est identifier par analyse du spectre COSY (Figure III-17) à partir de son proton anomérique résonant à 4,47 ppm (d , $J=7,7$ Hz), le proton H-2''' localisé à δ_H 3.40 ppm (dd , $J=8.8-7.7$ Hz) donne une corrélation avec le proton H-3''' à δ_H 3,49 ppm (t , $J=8,8$ Hz) ,le proton H-4''' résonne à δ_H 3.53 ppm sous la forme d'un multiplet couplé avec les protons géminés H-5a,b''' à δ_H 3,23 ppm (dd , $J= 11,6-9,3$ Hz) et à δ_H 3,87 ppm (dd , $J=11,6-5,5$ Hz). Les constantes de couplage $J_{H-1'''-H-2'''}$, $J_{H-2'''-H-3'''}$, $J_{H-3'''-H-4'''}$, $J_{H-4'''-H-5a,b'''}$ étant toutes supérieures a 7 Hz, attestent que ces protons sont tous axiaux. Ce qui permet d'identifier ce pentose a un β -D-xylose. La configuration β de ce pentose est confirmé par l'observation de l'effet rOe entres les protons, H-1'''/H-3''', H-1'''/H-5''' sur l'expérience ROESY (Figure III-18). Les valeurs des déplacements chimiques des carbones attribuées aux protons sur le spectre HSQC J -modulé (Tableau III-1, Figure III-19) montrent un β -D-Xylose dont le carbone C-3''' est déblindé à 81.7 ppm indiquant une substitution en cette position [Top et al., 2017 ; Rezgui et al., 2016].

- Identification du **Rhamnose II**

L'analyse combiné des spectres TOCSY et COSY (Figure III-16, III-17) a permis d'identifier huit protons d'un deuxième rhamnose caractérisé à partir de son proton anomérique H-1'''' résonnant à δ_H 5,21 ppm (*d*, $J=1,1$ Hz) couplé avec le proton H-2'''' (δ_H 3,97, *dd*, $J=3,3-1,1$ Hz) qui corrèle à son tour avec le proton H-3'''' à δ_H 3,96 ppm (*dd*, $J=9,6-3,3$ Hz). Le proton H-3'''' quant à lui présente une corrélation avec le proton H-4'''' localisé à δ_H 3,63 sous la forme d'un triplet, ce dernier corrèle avec H-5'''' à δ_H 4,12 ppm (*t*, $J=9,6$ Hz). Les protons H-3-6'''' résonnent sous forme d'un doublet à δ_H 1,34 couplent avec le proton H-5'''' au regard d'une constante de couplage $J = 6,2$ Hz. La faible constante de couplage entre H-2''''/H-3'''' indique une position équatoriale du proton H-2'''' bien que la grande constante de couplage entre H-3''''/H-4'''' et H-4''''/H-5'''' atteste une position transdiaxiale des protons H-3'''' , H-4'''' et H-5''''.

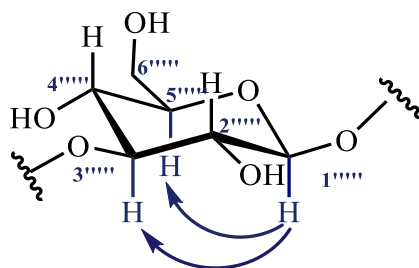
Sur le spectre ROESY (Figure III-18), l'absence des effets rOe entre le proton H-1'''' et les protons H-3'''' et H-5'''' et la présence d'un effet rOe entre le proton H-1'''' et H-2'''' , indiquent une configuration α pour l'anomère. Ceci est vérifié par les déplacements chimiques en RMN ^{13}C des carbones, déterminés à partir du spectre HSQC, qui sont en accord avec un α -L-rhamnose.

Les déplacements chimiques des carbones de ce sucre sur le spectre HSQC (Figure III-19) correspondent à un α -L rhamnose substitué en C-4'''' [Ma et al., 1992].

- Identification du **Glucose I**

L'analyse des spectres COSY (Figure III-17) et TOCSY (Figure III-16) permet d'identifier un troisième système de spins à sept protons d'un hexose à partir du proton anomérique H-1'''' situé à δ_H 4,62 ppm (*d*, $J=7,9$ Hz) ce proton couple avec le proton H-2'''' à δ_H 3,32 ppm sous la forme d'un multiplet, lui-même présente une corrélation avec le proton H-3'''' résonnant sous la forme d'un triplet à δ_H 3,53 ppm ($J=8,9$ Hz). Ce dernier permet de repérer le proton H-4'''' (δ_H 3,39, *t*, $J=8,9$ Hz) qui corrèle lui-même avec un proton à δ_H 3,31 ppm (*m*) attribuable au proton H-5'''' qui donne deux corrélations avec les deux protons géminés H-6a'''' à δ_H 3,73 ppm (*dd*, $J=11,9-5,2$ Hz) et H-6b'''' à δ_H 3,86 (m). Les constantes de couplage vicinales $^3J_{H1''''-H2''''}$, $^3J_{H2''''-H3''''}$, $^3J_{H3''''-H4''''}$, $^3J_{H4''''-H5''''}$, $^3J_{H5''''-H6b''''}$ sont toutes supérieures à 7Hz indiquent des positions transdiaxiales de ces protons et nous orientent vers un β -D-glucose. Les déplacements chimiques des carbones assignés par l'expérience HSQC J -modulé ainsi que les effets rOe observés sur le spectre ROESY (Tableau III-1, Figure III-18) entre les protons H-1'''' et H-3'''' et entre les protons H-1'''' et H-5'''' confirme cette configuration. Le déblindage du

carbone C-3'''' de ce glucose vers 83.3 ppm indique une substitution à cet endroit [Bock et al., 1984].



Corrélations ROESY du β -D-glucose.

- Identification du **Rhamnose III**

A partir du doublet anomérique H-1'''' résonant à δ_H 5,16 ppm (1,7 Hz) l'analyse du spectre COSY (Figure III-17) permet de relier les protons constituant un troisième désoxy-6-hexose. Par son corrélation avec le proton H-1'''' le proton H-2'''' situé à δ_H 3,97 ppm (*dd*, $J=3,3-1,7$ Hz) présente une tache de corrélation avec le proton H-3'''' (δ_H 3,71, *dd*, $J=9,0-3,3$ Hz) lui-même couplé avec le proton H-4'''' sous la forme d'un triplet à δ_H 3,42 ppm ($J=9,0$ Hz). Le proton H-5'''' repéré à δ_H 4,01 ppm (*m*) corréle avec le proton H-4'''' et avec les protons du méthyle H₃-6 localisé à δ_H 1,27 ppm ($J=6,2$ Hz). Les valeurs de constante de couplage révèlent une configuration transdiaxiale des protons H-3'''' , H-4'''' et H-5'''' et une position équatoriale des protons H-1'''' et H-2'''' , attestent ainsi qu'il s'agit d'un α -L-rhamnose. La configuration α du proton anomérique est confirmé par un effet rOe observé sur le spectre ROESY (Figure III-18) entre les protons H-1''''/H-2'''' et l'absence des effets rOe entre les protons H-1''''/H-3'''' et H-1'''' /H-5'''' . Les déplacements chimiques des carbones (Tableau III-1) constituant ce sucre assignés par analyse du spectre HSQC *J*-modulé sont en accord avec un α -L-rhamnose terminale [Bock et al., 1984 ;Bock et Pedersen.,1983].

- *Séquençage osidiques en C-28*

- Identification du **Glucose II**

A partir du second proton anomérique résonant à 5,37 ppm (*d*, $J=8,3$ Hz) on relie sept protons correspondant à un deuxième hexose (Figure III-16,III-17). Les grandes valeurs de constante de couplages montrent que tous ces protons sont transdiaxiaux. On identifie ainsi un glucopyranose de configuration β -D comme l'indique la constante de couplage ($J_{H-1''''-H-2''''} = 8,3$ Hz). Cette configuration est confirmée par les effets rOe observés sur le spectre ROESY (Figure III-18) entre les proton H-1'''' et H-3'''' et entre H-1'''' et H-5'''' . Le déblindage du carbone

C-6 est en faveur d'une substitution à cet endroit, alors que la valeur blindée du C-1'''''' et déblindée du H-1'''''' (Tableau III-1) sont caractéristiques d'un glucose impliqué dans une liaison ester donc ce sucre est lié au carbonyle C-28 [Tan et al., 1999].

▪ Identification du **Glucose III**

A partir du dernier proton anomérique H-1'''''' situé à δ_H 4,36 ppm (*d*, $J=7,6$ Hz), l'analyse des corrélations sur les spectres COSY et TOCSY (Figure III-17,III-16) nous a permis d'identifier un système de sept spins caractéristiques d'un hexose dont H-2'''''' résonne sous la forme d'un triplet à δ_H 3,23 ppm ($J=7,8$ Hz) couple avec le proton H-3'''''' (δ_H 3,36 , *m*). Le proton H-4'''''' résonnant sous la forme d'un triplet à δ_H 3,31 ppm ($J=8,9$ Hz) corrèle avec le proton H-5'''''' (δ_H 3,27 ppm, *m*) qui corrèle avec les deux protons géminés H-6a,b'''''' à δ_H 3,66 ppm (*dd*, $J=11,9-5,6$ Hz) et à δ_H 3,86 ppm (*m*). Les positions axiales des protons sont attestées par les valeurs des constantes de couplage qui sont toutes supérieures à 7 Hz ainsi que les effets rOe présent sur le spectre ROESY (Figure III-18) entre H-1''''''/H-3'''''' et H-1''''''/H-5'''''' indiquant ainsi la présence d'un β -D-glucose. La comparaison des déplacements chimiques (Tableau III-1) des carbones constituant ce glucose sont en accord avec ceux d'un β -D-glucose terminale [Top et al., 2017].

Séquençage des chaînes osidiques

Le séquençage de la partie osidique est réalisé par analyse du spectre HMBC (Figure III-20) sur lequel les corrélations $^3J_{H-C}$ suivantes sont observées indiquant que cette saponine est de nature bidesmosidique :

H-1'''''' Rha III terminale et **C-3''''''** Glc I,

H-1'''''' Glc I et **C-4''''''** Rha II,

H-1'''''' Rha II et **C-3''''''** Xyl II,

H-1'''''' Xyl II et **C-3''''''** Rha I,

H-1'''''' Rha I et **C-2''''''** Xyl I,

H-1'''''' Xyl I et **C-3** de l'acide oléanolique

Et d'autres corrélations $^3J_{C-H}$ entre :

H-1'''''''' Glc III et **C-6''''''''** Glc II,

H-1'''''''' Glc II et **C-28** de l'acide oléanolique .

Ces corrélations montrent que la séquence; [α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-

β -D-xylopyranoside] constitue la chaîne «éther» liée en C-3 de la génine et que la chaîne disaccharide et une autre chaîne ester lié en C-28 constitué d'un gentibioside ;[β -D-glucopyranosyl -(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl].

Ce séquençage osidique est confirmé par l'existence des effets rOe sur le spectre ROESY (Figure III-18) entre :

H-1'''''' Rha III terminale et **H-3''''''** Glc I,

H-1'''''' Glc I et **H-4''''''** Rha II,

H-1'''''' Rha II et **H-3''''''** Xyl II,

H-1'''''' Xyl II et **H-3''''''** Rha I,

H-1'''' Rha I et **H-2''''** Xyl I,

H-1'''' Xyl I et **H-3** de l'acide olénoïque .

H-1'''''''''' Glc III et **H-6a''''''''''** Glc II.

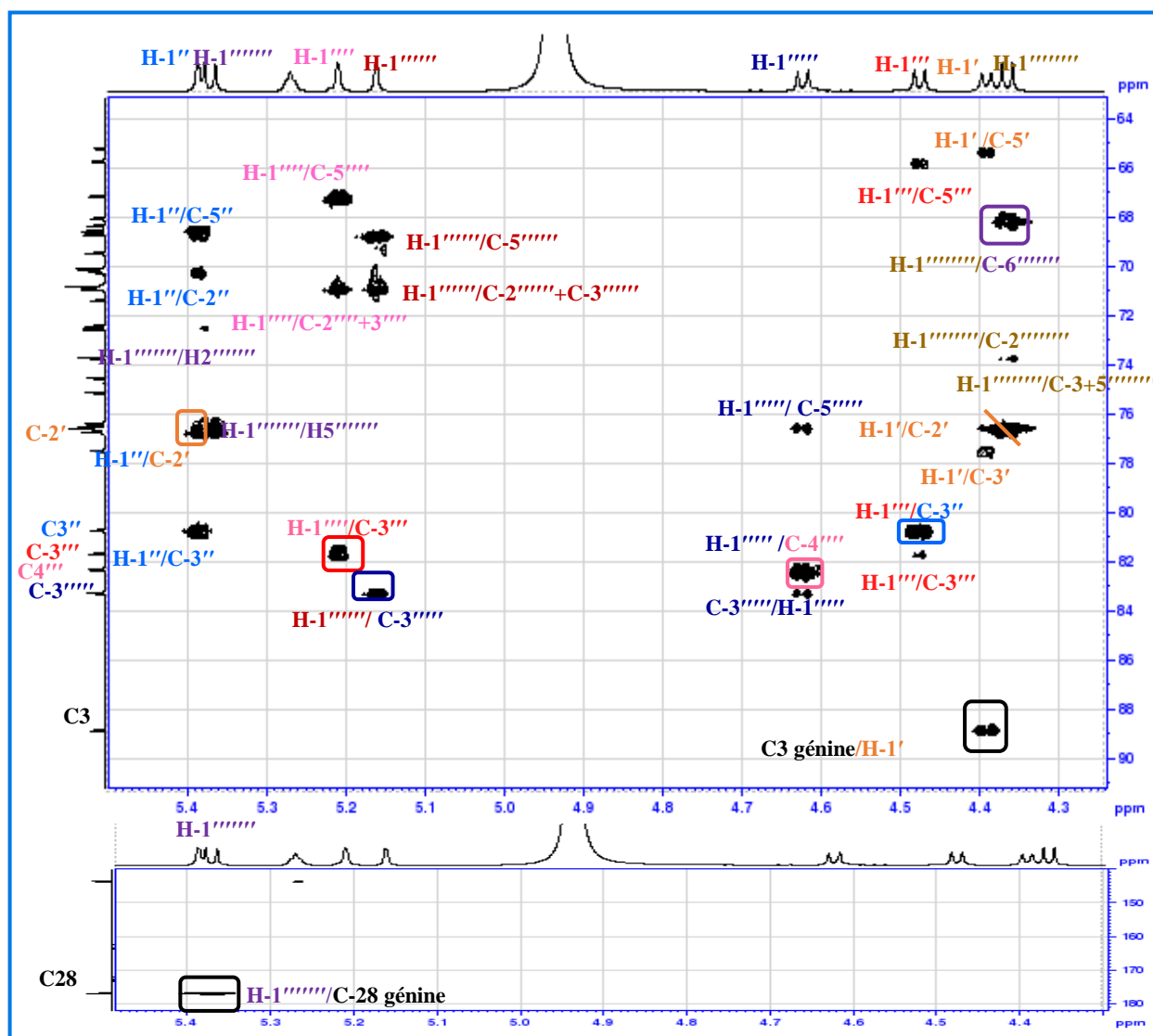


Figure III-20 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp1.

L'ensemble des données interprétés nous permet d'identifier le composé **Sp1** en: acide 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. Une structure nouvelle nommée **Semipapposide A** [Bendamene et al.,2020].

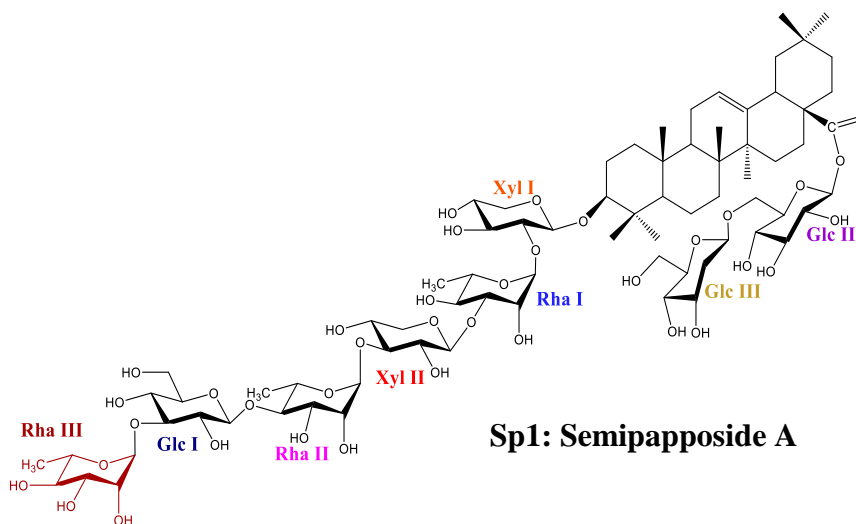


Tableau III-1: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) du composé **Sp1** dans CD₃OD.

<i>Partie génine</i>			<i>Partie osidique</i>					
Position	δ_C	δ_H m(J en Hz)	position	δ_C	δ_H m(J en Hz)	position	δ_C	δ_H m(J en Hz)
1	38,7	1,00, td (13,5- 3,1)	C-3	Xyl I		Rha III		
2	25,9	1,70, m	1'	105,0	4,39, d (7,2)	1''''''	101,3	5,16, d (1,7)
3	88,8	3,14, dd (11,8- 4,3)	2'	76,7	3,41, dd (8,5- 7,2)	2''''''	70,9	3,97, dd (3,3-1,7)
4	38,9	-	3'	77,5	3,45, t (8,5)	3''''''	70,8	3,71, dd (9,0-3,3)
5	55,9	0,80, d (12,3)	4'	70,1	3,47, m	4''''''	72,5	3,42, t (9,0)
6	18,0	1,42, m	5'	65,2	3,19, dd (11,6-9,8)	5''''''	68,7	4,01, m
7	32,5	1,33, m			3,84, dd (11,6-5,0)	6''''''	16,5	1,27, d (6,2)
8	39,3	-	Rha I			C-28	Glc II	
9	47,8	1,59, m	1''	99,9	5,38, d (1,5)	1''''''	94,3	5,37, d (8,3)
10	36,5	-	2''	70,2	4,13, dd (3,1-1,5)	2''''''	72,4	3,35, m
11	23,2	1,91, m	3''	80,7	3,90, dd (9,5-3,1)	3''''''	76,7	3,42, t (8,7)
12	122,4	5,27, t (3,7)	4''	71,4	3,57, t (9,5)	4''''''	69,5	3,44, t (8,7)
13	143,5	-	5''	68,6	4,00, m	5''''''	76,4	3,52, m
14	41,5	-	6''	16,6	1,25, d (6,2)	6''''''	68,0	3,78, dd (11,6-4,9)
15	27,5	1,10, dm (13,7)	Xyl II					4,14, dd (11,6-1,4)
16	22,6	1,73, m	1'''	105,0	4,47, d (7,7)		Glc III	
17	46,6	2,07, td (13,2-3,6)	2'''	74,5	3,40, dd (8,8-7,7)	1''''''	103,2	4,36, d (7,6)
18	41,1	-	3'''	81,7	3,49, t (8,8)	2''''''	73,7	3,23, t (7,8)
19	45,8	1,17, m	4'''	68,3	3,53, m	3''''''	76,6	3,36, m
20	30,2	-	5'''	65,7	3,23, dd (11,6, 9,3)	4''''''	70,1	3,31, t (8,9)
21	33,5	1,24, m			3,87, dd (11,6, 5,5)	5''''''	76,6	3,27, m
22	31,8	1,42, td (13,2- 2,8)	Rha II			6''''''	61,3	3,66, dd (11,9-5,6)
23	27,1	1,07, s	1''''	100,7	5,21, d (1,1)			3,86, m
24	15,9	0,88, s	2''''	70,8	3,97, dd (3,3-1,1)			
25	14,8	0,97, s	3''''	70,9	3,96, dd (9,6-3,3)			
26	16,4	0,82, s	4''''	82,3	3,63, t (9,6)			
27	24,9	1,17, s	5''''	67,1	4,12, m			
28	176,7	-	6''''	16,5	1,34, d (6,2)			
29	32,1	0,93, s	Glc I					
30	22,7	0,96, s	1''''''	104,1	4,62, d (7,9)			
			2''''''	75,1	3,32, m			
			3''''''	83,3	3,53, t (8,9)			
			4''''''	68,5	3,39, t (8,9)			
			5''''''	76,5	3,31, m			
			6''''''	61,2	3,73, dd (11,9-5,2)			
					3,86, m			

Les composés **Sp1-Sp8**, sont des bidesmosides de l'acide oléanolique dont la partie osidique est constituée de six à sept sucres en position C-3 de la génine et le gentibioside ; [β -D-glucopyranosyl -(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] en position C-28. Par conséquent, l'analyse structurale sera effectuée uniquement sur la partie osidique liée en position C-3 de l'aglycone. Les tableaux des déplacements chimiques de la partie osidique sont ajoutés après chaque élucidation et ceux des génines sont regroupés dans des tableaux insérés à la fin de chaque groupe élucidé.

III.1.1.2 Détermination structurale du composé Sp2

Le spectre de masse haute résolution HR-ESI-MS du composé **Sp2** (Figure III-21), en mode positif présente un pic d'ion pseudo-moléculaire m/z :1645,7848 $[M+H]^+$ (calculé 1645,7884) correspondant à la formule brute $C_{76}H_{125}O_{38}$ identique à celle du composé **Sp1** suggère la présence des isomères.

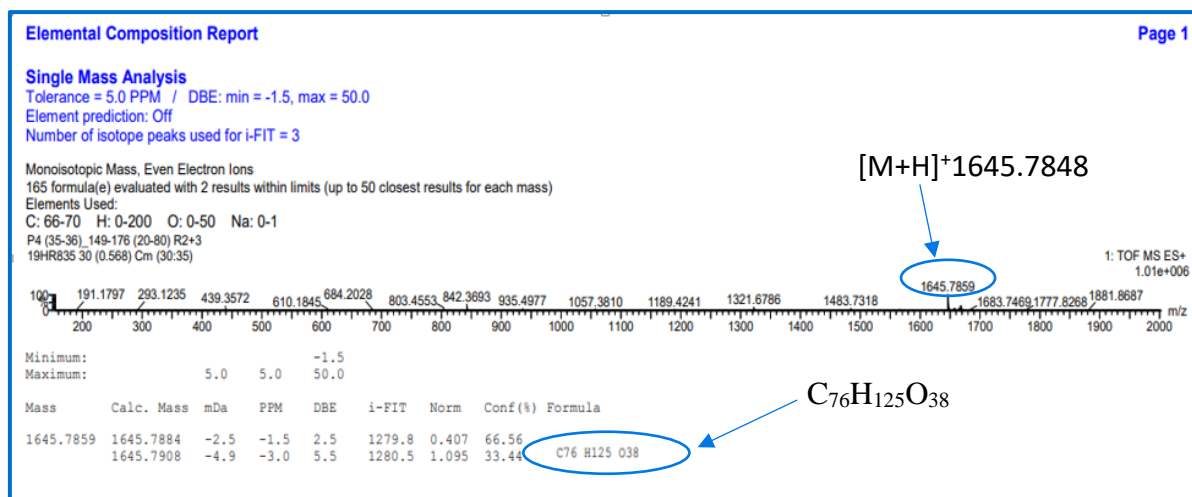


Figure III-21 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Sp2**.

L'analyse des spectres RMN-1D et -2D de **Sp1** et **Sp2** montre que ces composés sont possèdent une structure très voisine. La comparaison des valeurs de déplacements chimiques δ_H et δ_C attribuées à l'aide des spectres de RMN-1D et -2D respectifs permet d'affirmer que la seule différence entre ces deux composés réside dans le fait que le sucre lié en C-3 de la génine de **Sp1** est un Xyl alors qu'il s'agit d'un autre sucre dans le cas de **Sp2**. Ce résultat est soutenu grâce à l'observation des signaux anomériques suivants : dans le cas des **Sp2**, un nouveau signal anomérique résonne à δ_H 4,50 ppm (d, $J = 5.9$ Hz) / δ_C 103.9 remplaçant un signal à δ_H 4,39 (d, $J = 7.2$ Hz) / δ_C 105.0 dans le cas des **Sp1**(Figures III-22).

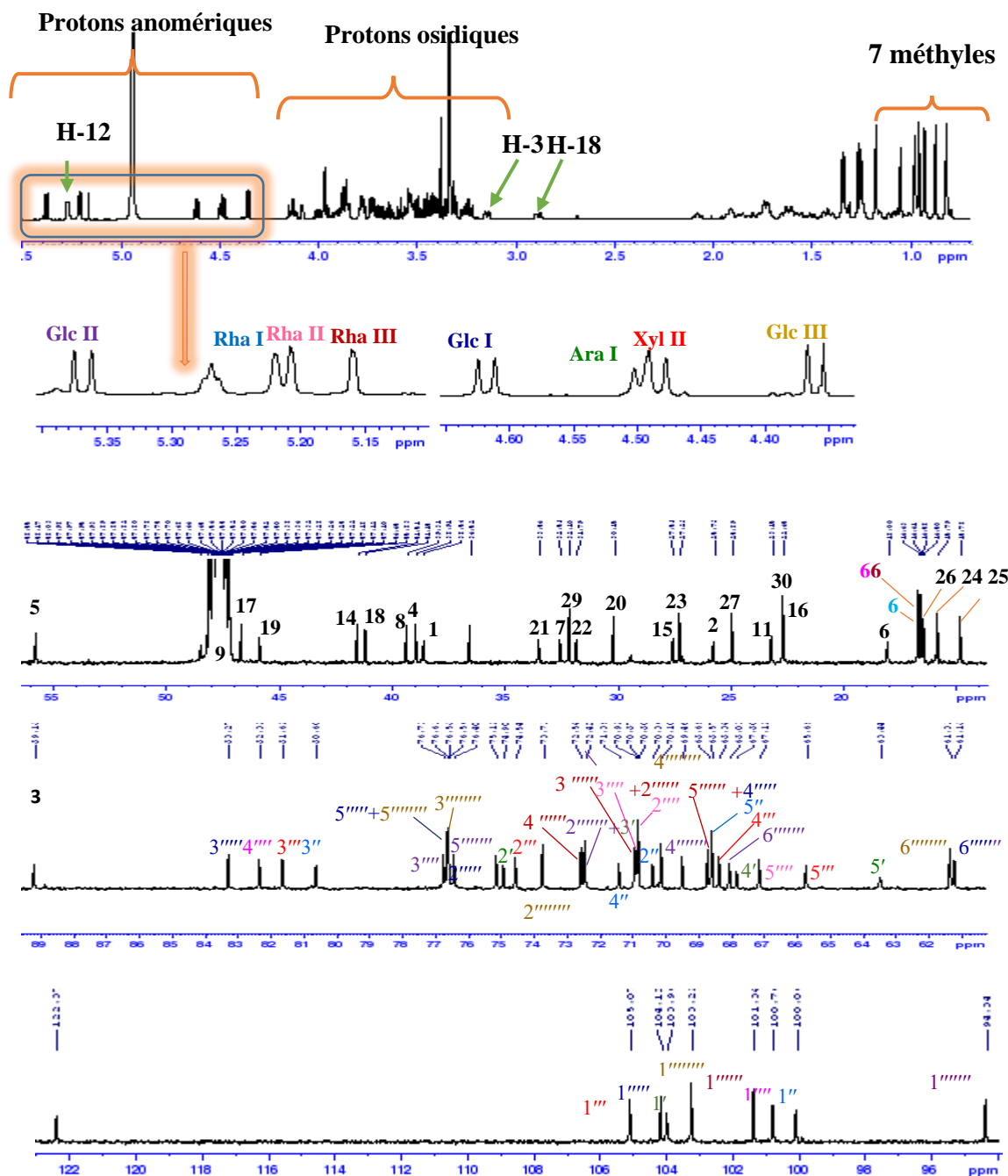


Figure III-22 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé **Sp2**.

L'analyse du spectre RMN- ^1H de **Sp2** nous permet de distinguer dans la zone des sucres huit signaux anomériques résonnant sous forme de doublets ou brin singulier à δ_{H} 4,36 ppm (d , $J=7,8\text{Hz}$), δ_{H} 4,48 ppm (d , $J=7.8\text{ Hz}$), δ_{H} 4,50 ppm (d , $J=5,9\text{ Hz}$), δ_{H} 4,62 ppm (d , $J=7.9\text{ Hz}$), δ_{H} 5,15 (d , $J=1,4\text{ Hz}$), δ_{H} 5,21 ppm brs, δ_{H} 5,22 ppm et δ_{H} 5,37 ppm (d , $J=8.2\text{ Hz}$) qui donnent des corrélations sur le spectre HSQC J -modulé (Figure III-23) avec huit carbones anomériques à δ_{C} 103,2, 105,1, 103,9, 104,1, 101,3, 100,8, 100,1, et 94,3 ppm respectivement.

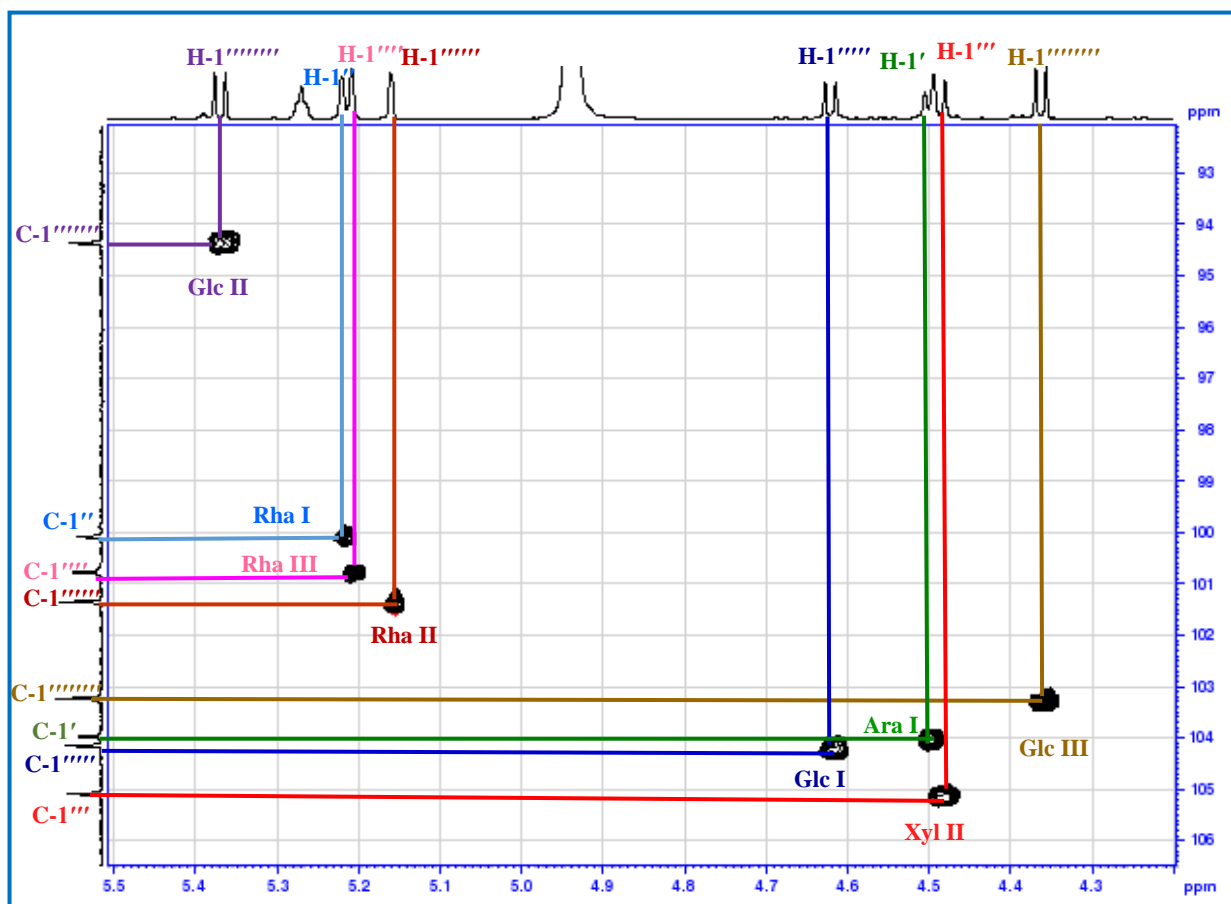


Figure III-23 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp2**.

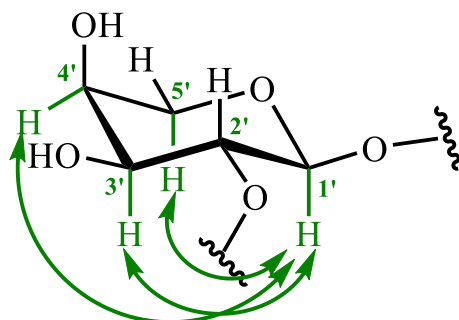
La nature des huit sucres a été déterminée à partir de l'expérience COSY et confirmée par l'expérience TOCSY. Les déplacements chimiques des protons et carbones attribués à l'aide des expériences HSQC, HSQC-TOCSY, ROESY et HMBC ont permis de caractériser les huit sucres dont sept sont communs avec le composé précédent:

- Un β -D Xylose (Xyl I).
- Trois α L-Rhamnose (Rha I, Rha II et Rha III).
- Trois β -D Glucose (Glc I, Glc II et Glc III).

-Le huitième sucre est identifié par analyse des spectres COSY, TOCSY et TOCSY-HSQC (Figure III-24, III-25, III-26) qui montre six spins couplés appartenant à un pentose dont l'anomère H-1'' résonne à δ_H 4,50 ppm (*d*, $J=5,9$ Hz). Le proton H-2' localisé à δ_H 3,77 (*dd*, $J = 8,6 - 5,9$ Hz) e corrèle avec le au proton H-3 [δ_H 3,72 (*dd*, $J= 8,6-3,7$ Hz)], lui-même couplé au proton H-4 résonant sous forme d'un forme d'un double ($J=3,7$ Hz). Ce dernier corrèle avec deux protons géminés H-5'a [δ_H 3,86(*dd*, $J=9,5-2,2$ Hz).] et H-5'b [δ_H 3,52 ppm (*m*)].

L'expérience TOCSY confirme les positions des différents protons de ce sucre par la visualisation des taches de corrélation entre les protons H-1'/H-2', H-1'/H-3', H-1'/H-4', H-1'/H-5'a (Figure III-24).

Les constantes de couplages $J_{2-1}=5,9$ Hz et $J_{2-3}=8,6$ Hz indiquent la position transdiaxiale des protons H-1', H-2', H-3' et la petite constante de couplage $J_{3-4}=3,7$ Hz révèle une position équatorial du proton H-4'. L'expérience ROESY montre des effets rOe entre les protons H-1'/H-3', H-1'/H-4' et H-1'/H-5'a confirment la présence d'un α -L-arabinose.



Corrélations ROESY du α -L-arabinose.

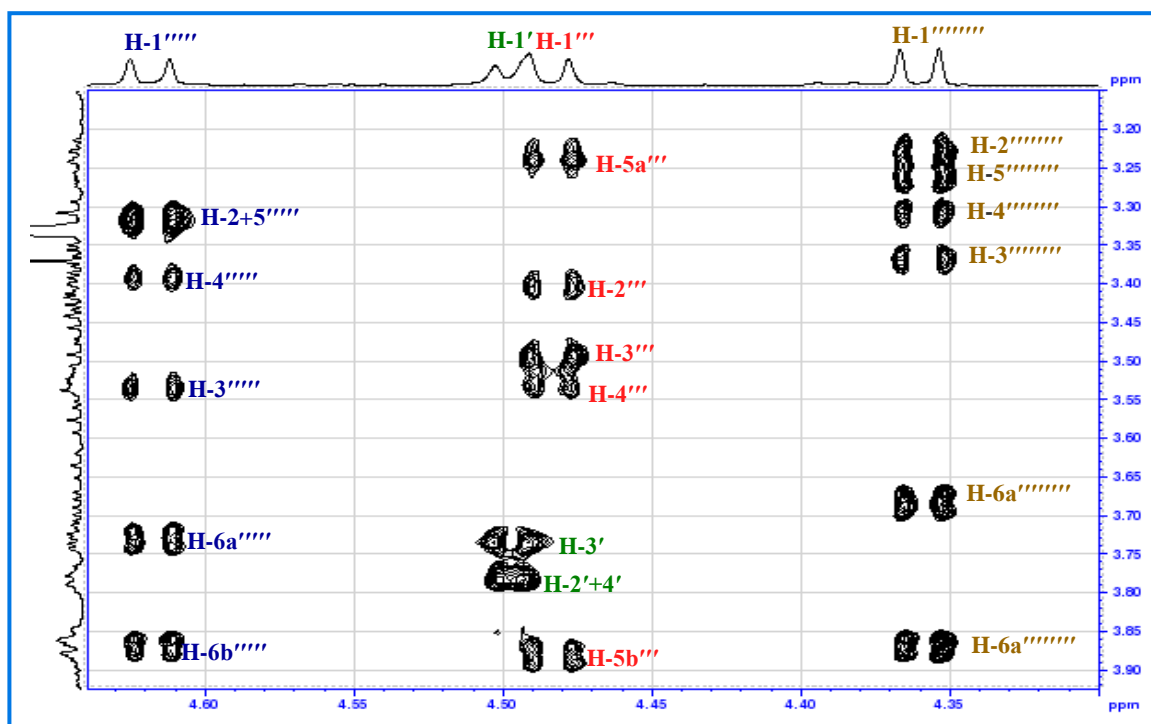


Figure III-24 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp2.

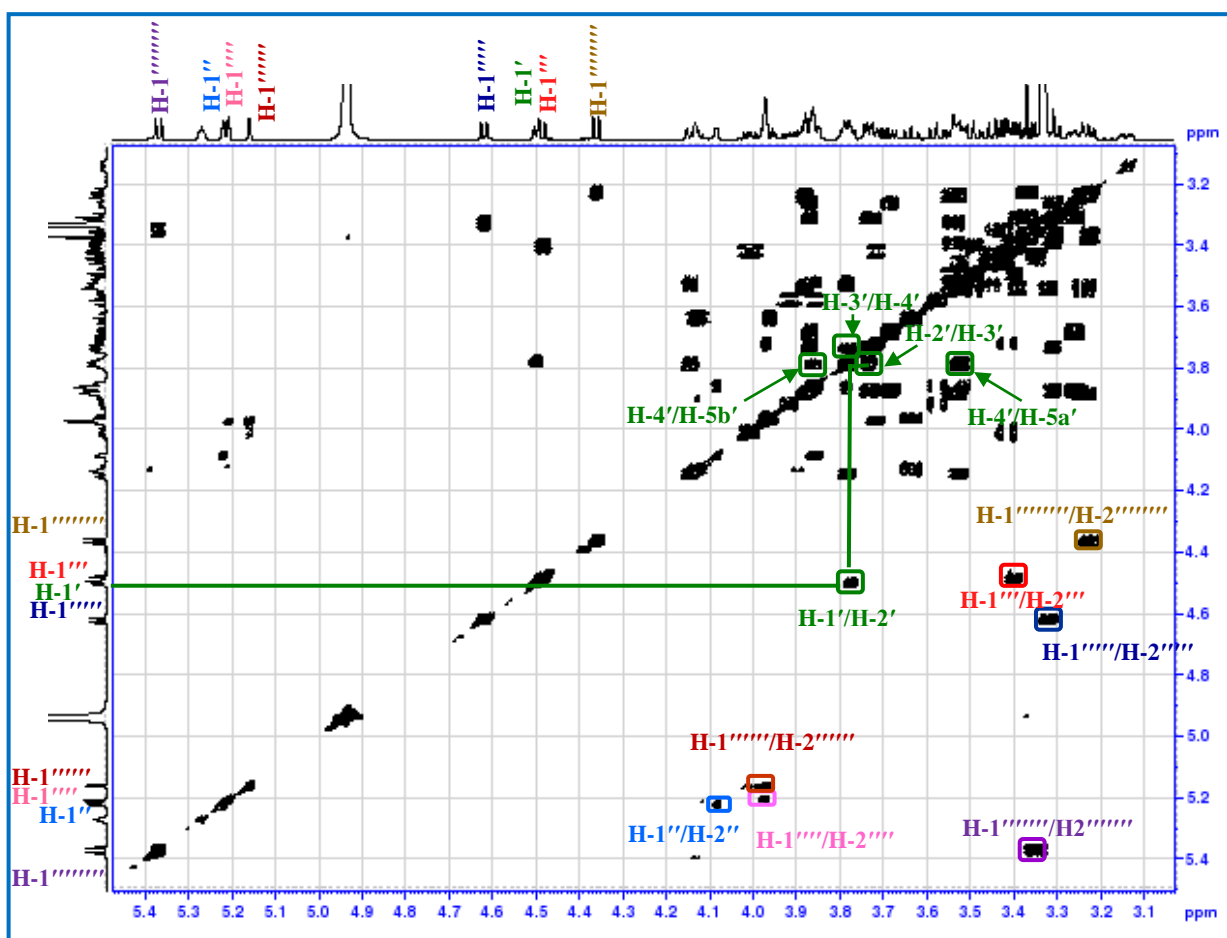


Figure III-25 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp2.

Les valeurs de déplacement chimique des carbones obtenus d'après l'analyse du spectre HSQC *J*-modulé (Figure III-27), sont caractéristiques d'un α -L-arabinose substitué en C-2' [Bock et al., 1984].

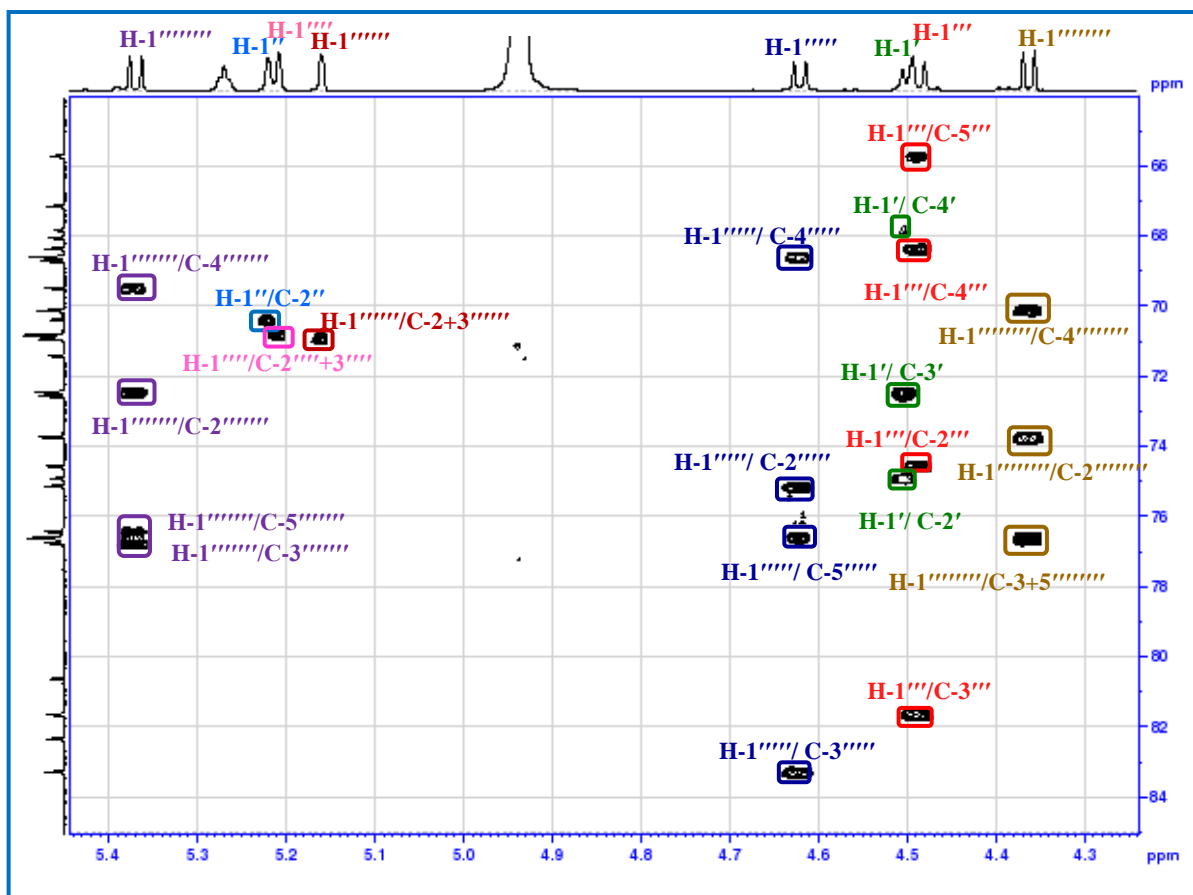


Figure III-26: Spectre HSQC-TOCSY de la zone osidique du composé Sp2.

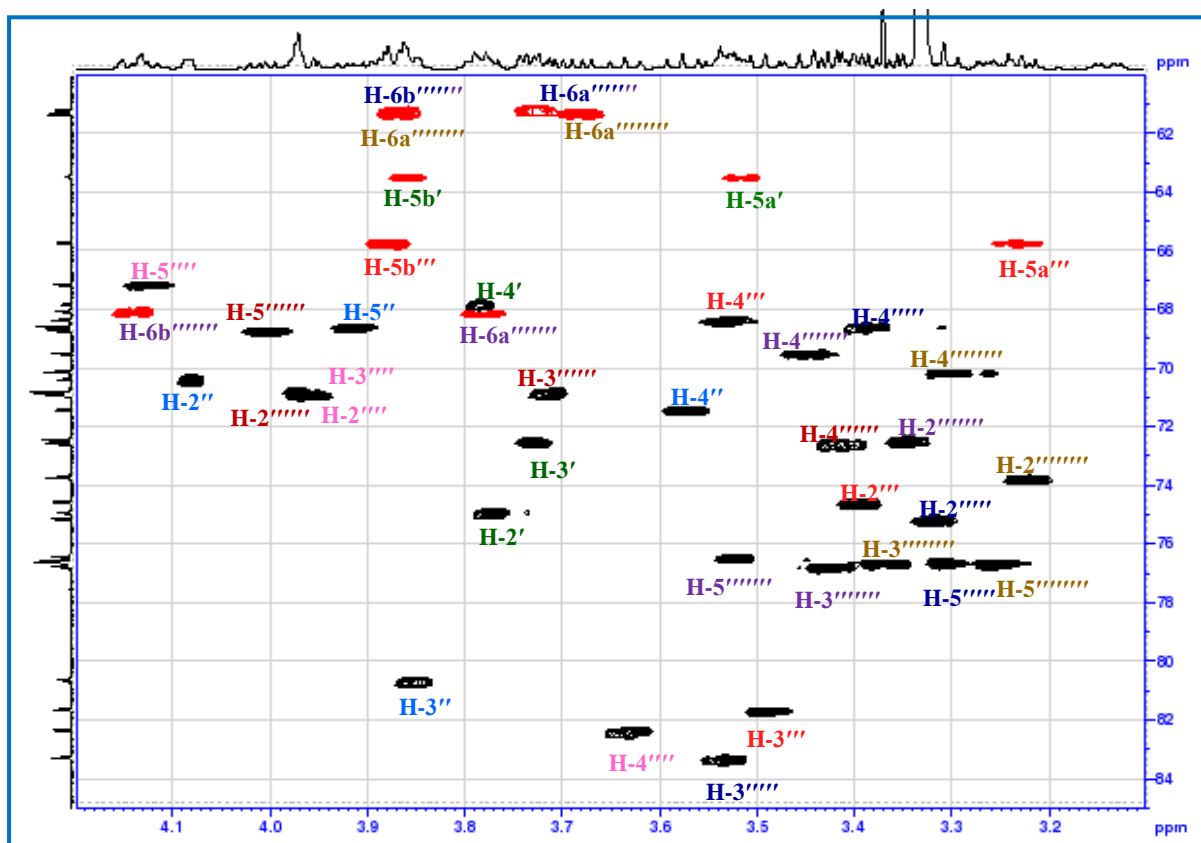


Figure III-27 : Spectre HSQCJ-modulé de la zone osidique du composé Sp2.

Les corrélations $^3J_{H-C}$ observés sur le spectre HMBC (Figure III-28) ont permis de déduire le séquençage des chaînes osidiques et les points de branchements sur l'aglycone comme suit :

H-1'''''' Rha III terminal et **C-3''''''** Glc I ,

H-1'''''' Glc I et **C-4''''** Rha II,

H-1'''''' Rha II et **C-3''''** Xyl I,

H-1'''' Xyl I et **C-3''** Rha I,

H-1'' Rha I et **C-2' Ara**,

H-1' Ara et **C-3** de la génine

H-1'''''''''' Glc III et **C-6''''''''** Glc II,

H-1'''''''''' Glc II et **C-28** de la génine.

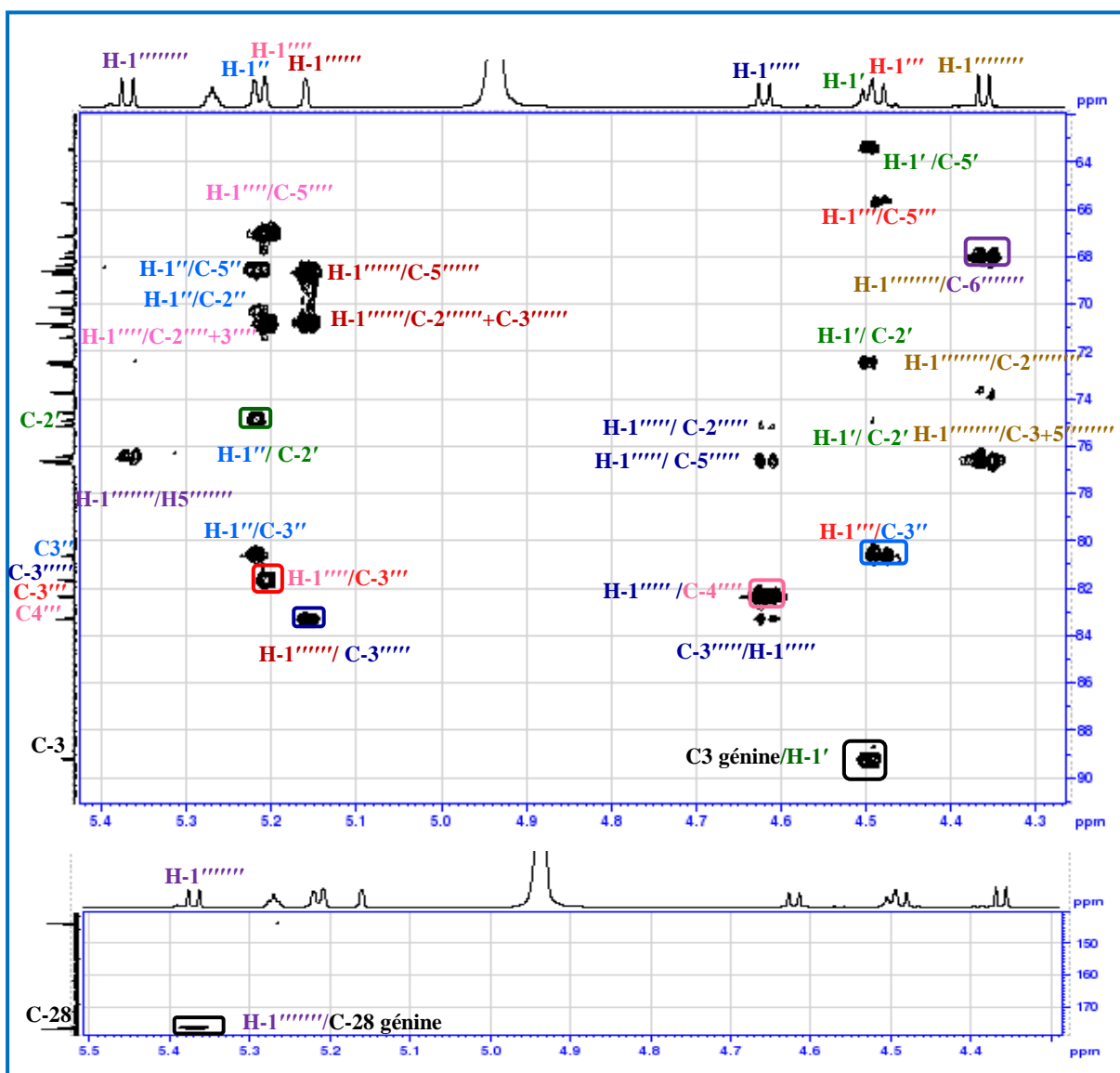


Figure III-28 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé **Sp2**.

Cet enchainement est confirmé par les effets rOe qui ont été visualisés sur le spectre ROESY (Figure III-29) entre :

H-1'''''' Rha III terminal et **H-3''''''** Glc I,

H-1'''''' Glc I et **H-4''''** Rha II,

H-1'''' Rha II et **H-3''''** Xyl I,

H-1'''' Xyl I et **H-3''** Rha I,

H-1'' Rha I et **H-2'** Ara ,

H-1' Ara et **H-3** de la génine.

H-1''''''''Glc III et **H-6a''''''''**Glc II.

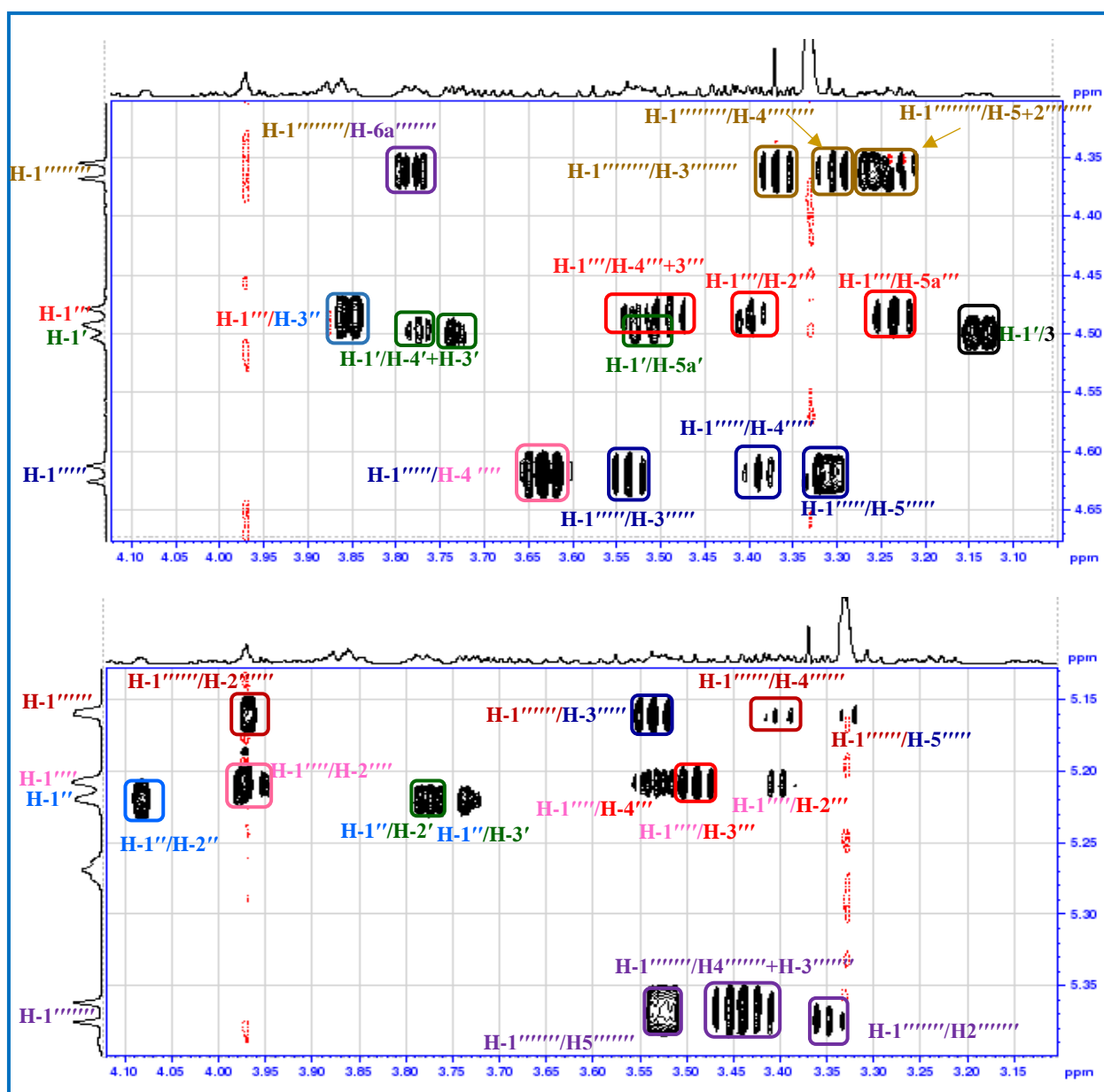


Figure III-29 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp2.

L'ensemble des données précédentes nous permet ainsi d'établir la structure de **Sp2** comme étant: l'acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. Nouveau composé naturel **Semipapposide B** [Bendamene et al.,2020]. Il s'agit bien d'un isomère de **Sp1**.

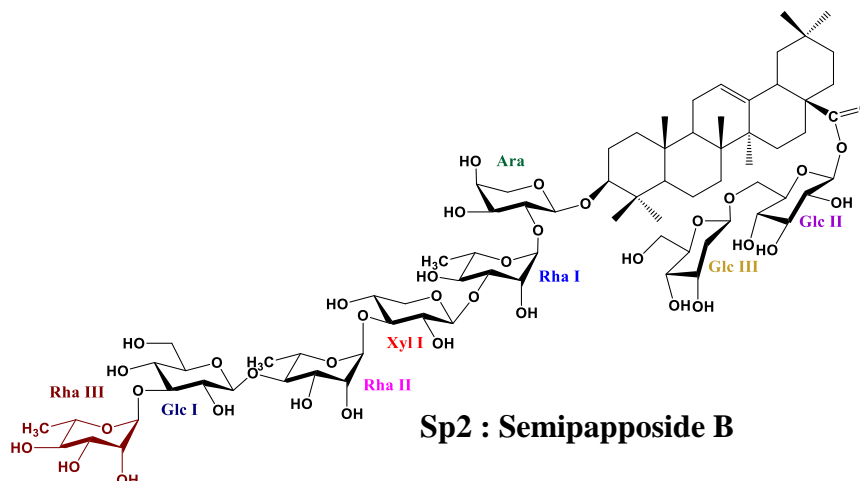


Tableau III-2 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) de la partie osidique du composé **Sp2** dans CD_3OD .

<i>Partie osidique</i>					
Position	δ_{C}	δ_{H} en (J en Hz)	Position	δ_{C}	δ_{H} en (J en Hz)
C-3	Ara		Glc I		
1'	103,9	4,50, d (5,9)	1''''	104,1	4,62, d (7,9)
2'	74,9	3,77, dd (8,6-5,9)	2''''	75,1	3,32, m
3'	72,4	3,72, dd (8,6-3,7)	3''''	83,3	3,53, m
4'	67,8	3,78, d (3,7)	4''''	68,6	3,39, dd (9,2-5,2)
5'	63,4	3,52, m	5''''	76,6	3,31, m
		3,86, dd (9,5-2,2)	6''''	61,3	3,73, dd (12,0-4,7) 3,88, dd (12,0-2,4)
	Rha I		Rha III		
1''	100,1	5,22, brs	1''''''	101,3	5,15, d (1,4)
2''	70,4	4,08, dd (2,8-1,7)	2''''''	70,9	3,97, dd (3,5-1,4)
3''	80,6	3,85, dd (9,7-2,8)	3''''''	70,8	3,72, dd (9,5-3,5)
4''	71,4	3,57, t (9,7)	4''''''	72,5	3,42, t (9,5)
5''	68,6	3,91, m	5''''''	68,7	4,00, m
6''	16,6	1,25, d (6,2)	6''''''	16,5	1,27, d (6,2)
	Xyl I		C-28	Glc II	
1'''	105,1	4,48, d (7,8)	1''''''''	94,3	5,37, d (8,2)
2'''	74,5	3,40, dd (9,0-7,8)	2''''''''	72,4	3,35, t (8,5)
3'''	81,6	3,48, t (9,0)	3''''''''	76,7	3,43, t (8,6)
4'''	68,3	3,53, m	4''''''''	69,5	3,45, t (8,8)
5'''	65,7	3,24, dd (11,9-9,2) 3,88, dd (11,9-4,8)	5''''''''	76,4	3,52, m
	Rha II		6''''''''	68,0	3,78, dd (11,5-5,1) 4,14, dd (11,5-1,8)
1''''	100,8	5,21, brs	Glc III		
2''''	70,9	3,97, m	1''''''''''	103,2	4,36, d (7,8)
3''''	70,8	3,95, dd (9,2-3,3)	2''''''''''	73,7	3,23, dd (9,2-7,8)
4''''	82,3	3,63, t (9,2)	3''''''''''	76,6	3,37, t (9,2)
5''''	67,1	4,13, m	4''''''''''	70,1	3,30, t (9,2)
6''''	16,6	1,34, d (6,2)	5''''''''''	76,6	3,26, m
			6''''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,6) 3,87, dm (12,0)

III.1.1.3 Détermination structurale du composé Sp3

La formule moléculaire brute $C_{77}H_{127}O_{39}$ du composé a été déduite à partir du spectre de masse haute résolution HR-ESI-MS enregistré en mode positif (Figure III-30). Il montre en effet un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z : 1675,7977 $[M+H]^+$ (calculé, 1675,7954), soit un gain de 30 *uma* par rapport à Sp1.

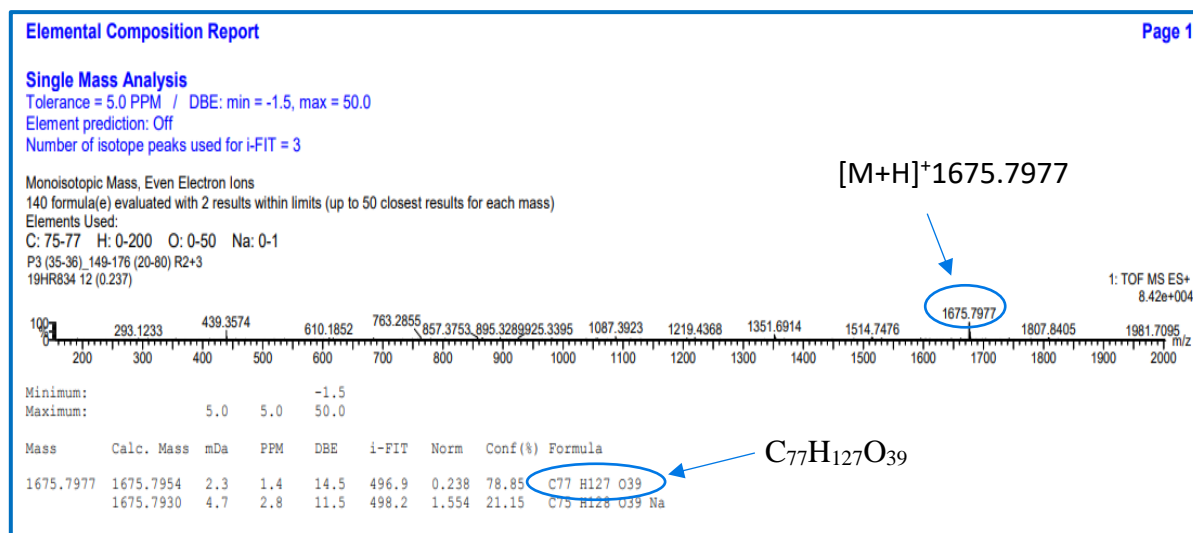


Figure III-30 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp3.

La comparaison des spectres RMN-1D et -2D de Sp1 et Sp3 permettent de noter que ces composés possèdent des structures très proches à une différence près qui est la disparition d'un signal correspondant au Xyl-II lié au C-3 du Rha-I dans Sp1 et l'apparition d'un nouveau signal d'un hexose à δ_H 4,50 ppm (d , $J=7,9$ Hz) dans Sp1.

Nous observons sur le spectre RMN-1H (Figure III-31) la présence de huit protons anomériques résonnant à δ_H 4,36 ppm (d , $J=7,8$ Hz), δ_H 4,38 ppm (d , $J=7,3$ Hz), δ_H 4,50 ppm (d , $J=7,9$ Hz), δ_H 4,62 ppm (d , $J=7,9$ Hz), δ_H 5,15 (d , $J=1,4$ Hz), δ_H 5,22 ppm (d , $J=2,1$ Hz), δ_H 5,30 ppm (d , $J=1,3$ Hz) et δ_H 5,36 ppm (d , $J=8,2$ Hz) qui donnent des corrélations sur le spectre HSQC (Figure III-32) avec huit carbones anomériques à δ_C 103,2 , 105,2 , 104,2, 104,1 , 101,3, 100,9 , 100,3 , et 94,3 respectivement.

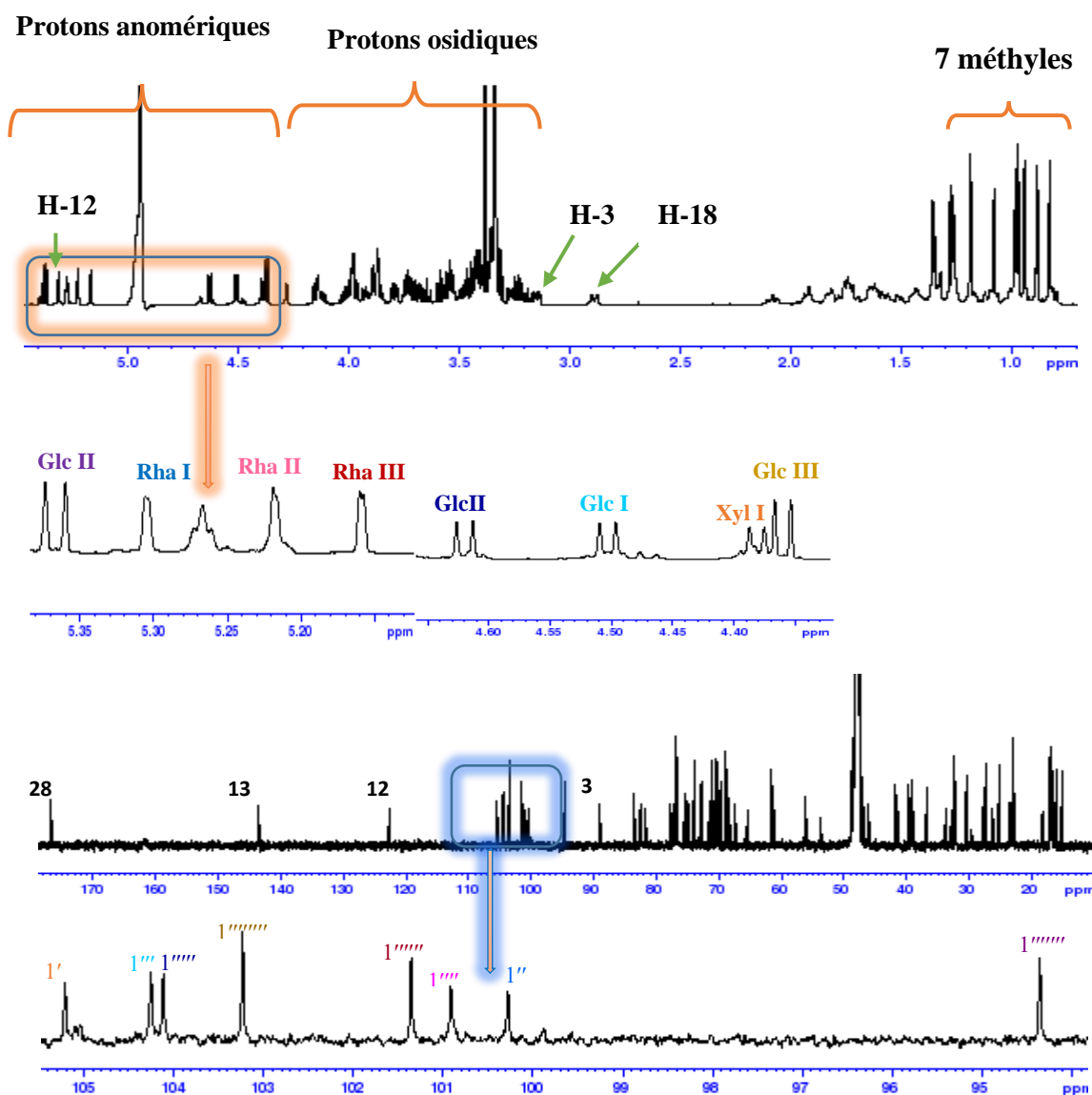


Figure III-31 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé **Sp3**.

L'analyse des spectres COSY 1H-1H, conjointement avec les spectres de corrélation TOCSY, HSQC et HMBC (Figure III-33,34, 35) de **Sp3** permet de caractériser huit sucres dont sept sont commun avec le composé **Sp1** :

- Un β -D Xylose (Xyl I),
- Trois α -LRhamnose (Rha I, Rha II, Rha III),
- Trois β -D Glucose (Glc I, Glc II, Glc III, Glc VI).

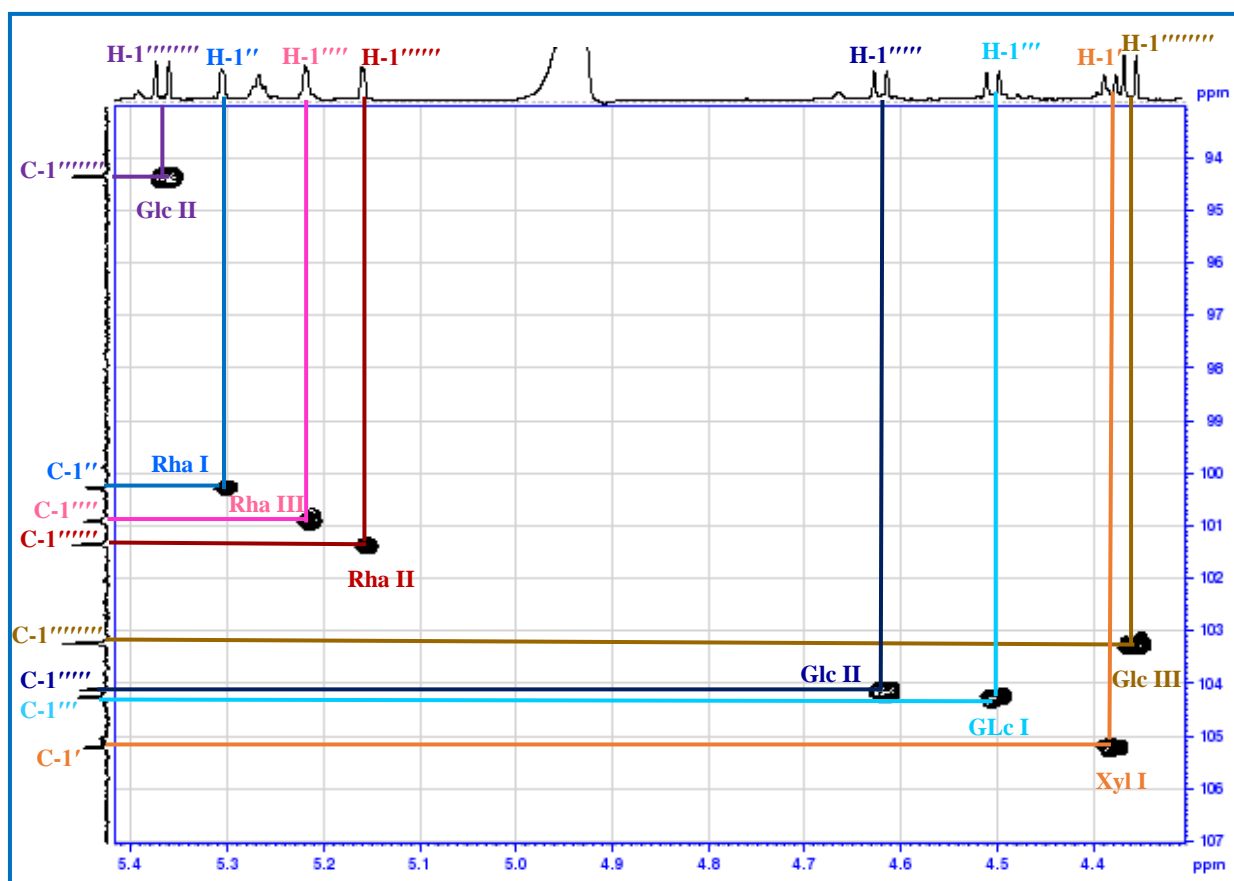


Figure III-32 : Spectre HSQC de la partie anomère du composé Sp3.

L'analyse du spectre COSY et à l'aide du spectre TOCSY (Figure III-33) à permet de repérer les sept protons d'un hexose. A partir de son proton anomérique H-1''' à δ_H 4,50 ppm (d , $J=7,9$ Hz). Les constantes de couplage vicinales entre les protons vicinaux toutes supérieures à 7Hz, révèlent qu'ils sont tous axiaux, caractéristiques d'un β -D-glucopyranose.

L'analyse des effets rOe observés sur le spectre ROESY (Figure III-36) entre le proton H-1''' et les protons H-3''' et H-5''' confirment cette constatation. Les déplacements chimiques des carbones (Tableau III-3) attribués à l'aide du spectre HSQC-TOCSY et confirmés par le spectre HSQC- J -modulé (Figure III-34) sont en accord avec un β -D-glucose substitué en C-3''' [Bock et al., 1984].

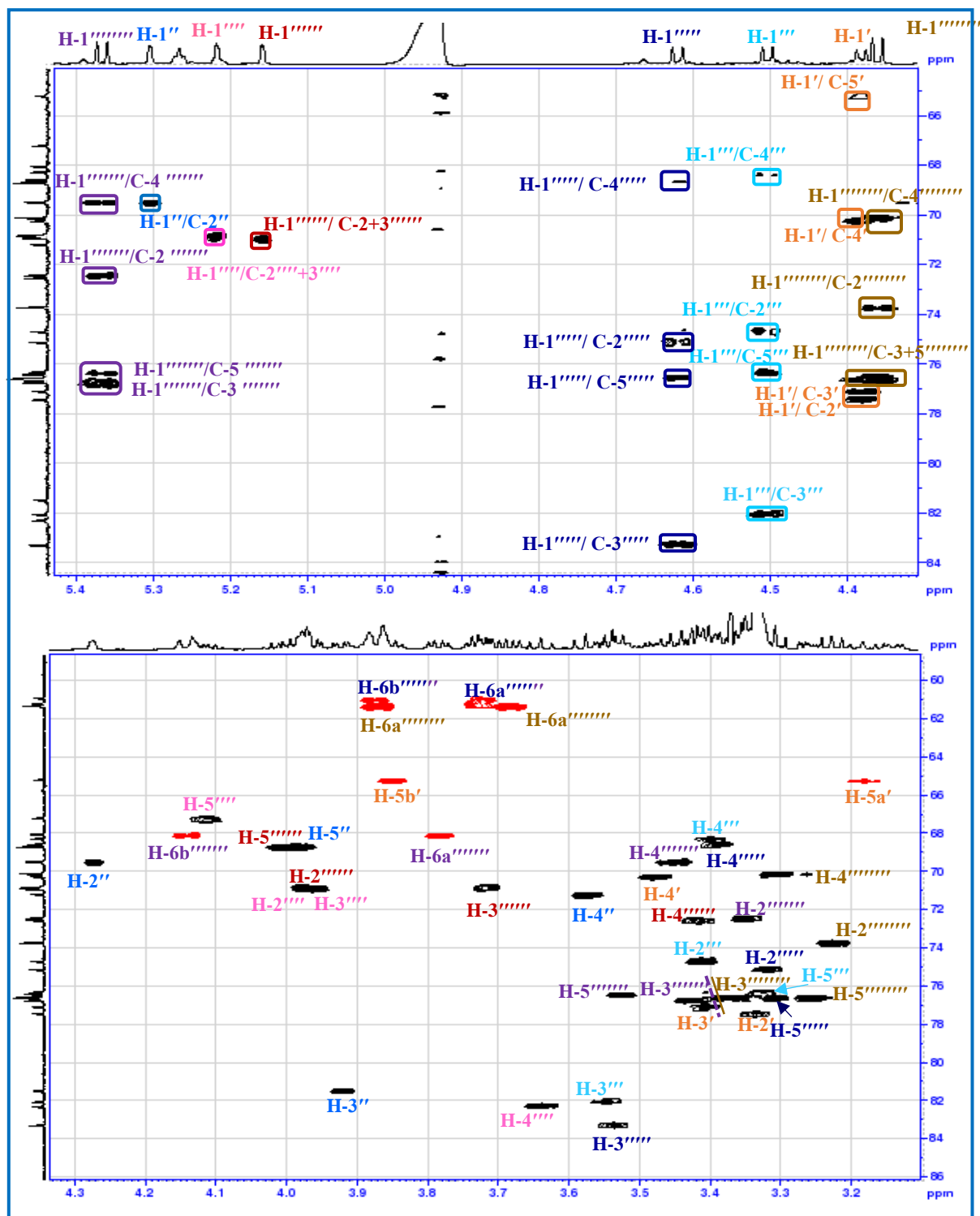


Figure III-34 : Spectre HSQC-TOCSY et HSQC de la partie osidique du composé **Sp3**.

Le séquençage de la partie osidique est réalisé par l'analyse du spectre HMBC sur lequel, les corrélations $^3J_{H-C}$ suivantes sont observées :

H-1'''''' Rha III terminal et **C-3''''''** Glc II,

H-1'''''' Glc II et **C-4''''''** Rha II,

H-1'''''' Rha II et **C-3''''''** Glc I,

H-1'''''' Glc I et **C-3''''''** Rha I,

H-1'''' Rha I et **C-2''''** Xyl I,

H-1'''' Xyl I et **C-3** de la génine.

H-1'''''''''' Glc IV et **C-6''''''''** Glc III,

H-1'''''''''' Glc III et **C-28** de la génine.

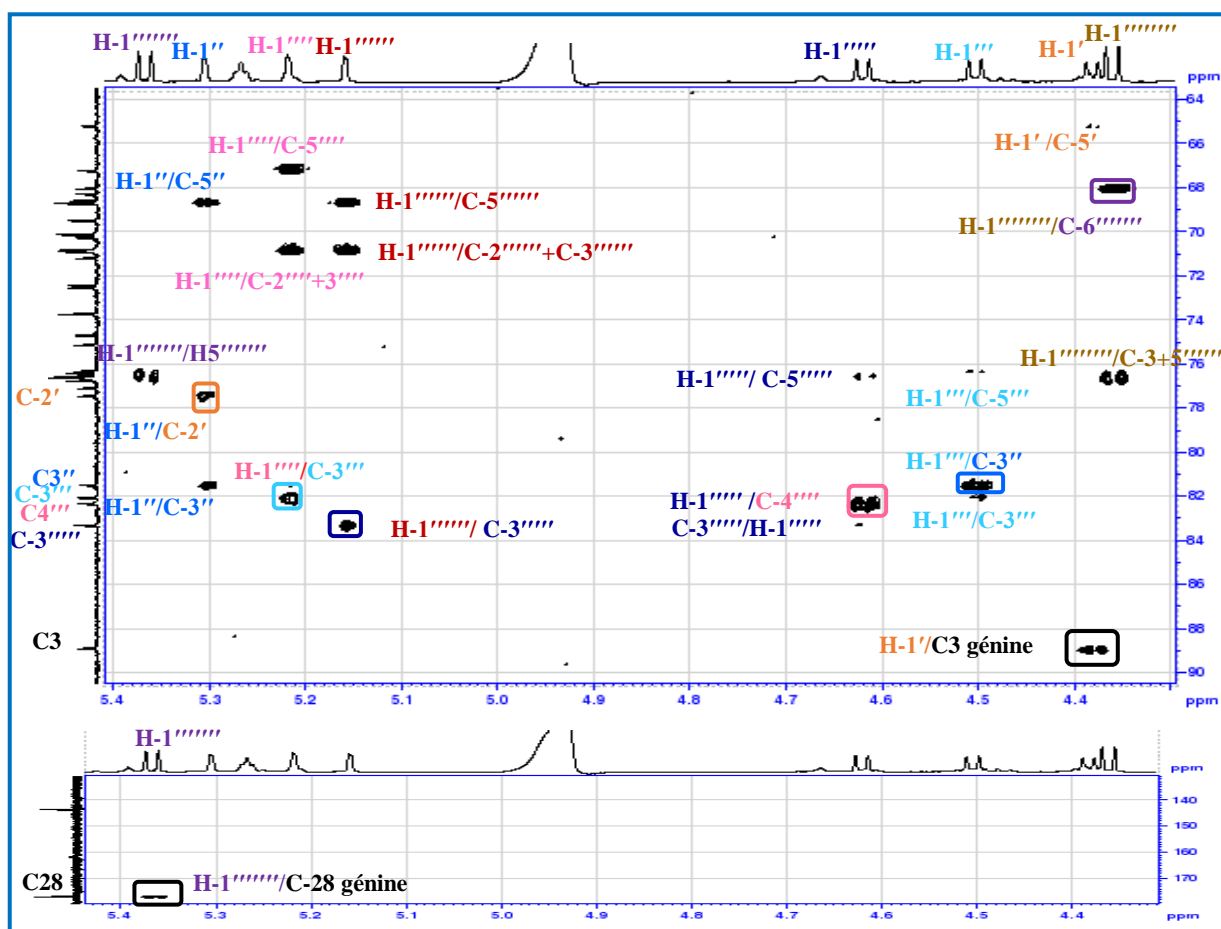


Figure III-35 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé **Sp3**.

Les effets rOe sur le spectre ROESY nous permet de confirmer cette séquence :

H-1'''''''' Rha III terminal et **H-3''''''''** Glc II,

H-1'''''''' Glc II et **H-4''''''''** Rha II,

H-1'''''''' Rha II et **H-3''''''''** Glc I,

H-1'''''''' Glc I et **H-3''''''''** Rha I,

H-1'''''' Rha I et **H-2''''** Xyl I,

H-1'''' Xyl I et **H-3** de la génine. Et entre **H-1''''''''''** Glc IV et **H-6a''''''''''** Glc III.

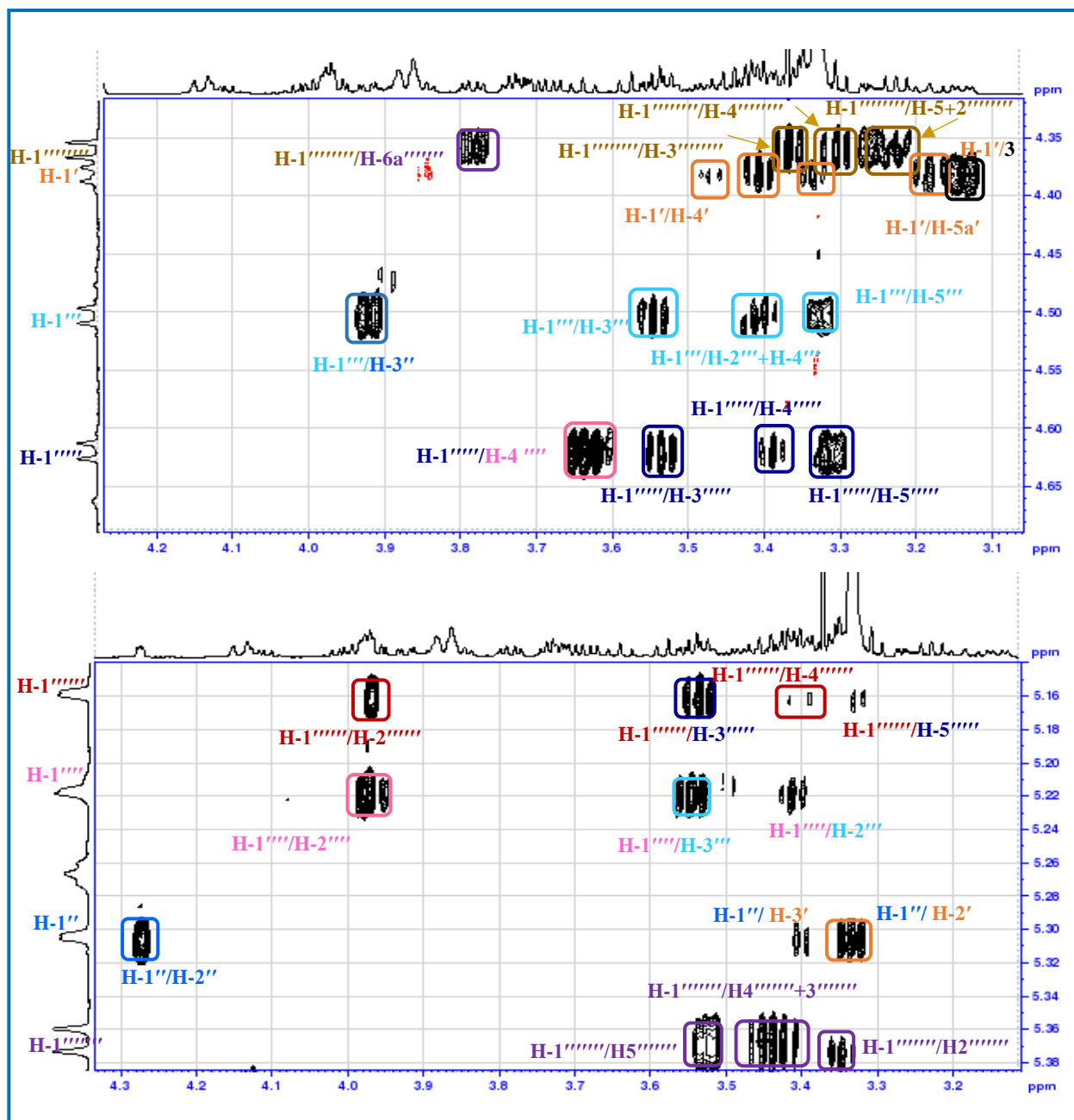


Figure III-36 : Spectre ROESY de la partie osidique du composé **Sp3**.

Sur la base des résultats précédents, la structure de **Sp3** est déterminée comme étant la suivante : l'acide 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. Nouveau composé naturel dénommé **Semipapposide C** [Bendamene et al., 2020].

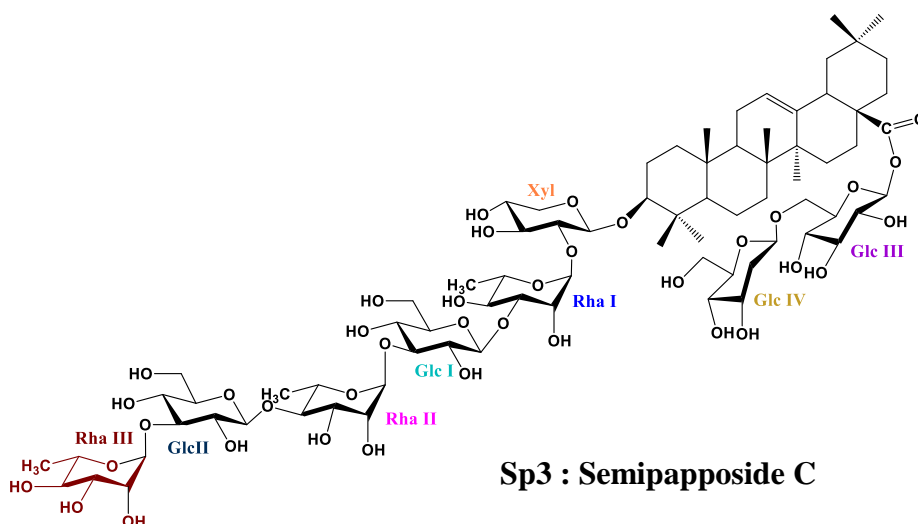


Tableau III-3 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) de la partie osidique du composé **Sp3** dans CD_3OD .

<i>Partie osidique</i>					
Position	δ_{C}	δ_{H} <i>m</i> (J en Hz)	Position	δ_{C}	δ_{H} <i>m</i> (J en Hz)
C-3	Xyl			Glc II	
1'	105,2	4,38, d (7,3)	1''''	104,1	4,62, d (7,9)
2'	77,4	3,33, m	2''''	75,1	3,32, m
3'	77,1	3,40, t (9,4)	3''''	83,3	3,53, t (9,0)
4'	70,2	3,48, m	4''''	68,6	3,39, m
5'	65,2	3,18, t (10,6)	5''''	76,6	3,31, m
		3,85, dd (10,6-5,5)	6''''	61,0	3,72, dd (12,8-4,8) 3,86, dd (12,8)
	Rha I			Rha III	
1''	100,3	5,30, d (1,3)	1''''''	101,3	5,15, d (1,4)
2''	69,5	4,27, dd (3,1-1,3)	2''''''	70,9	3,97, m
3''	81,5	3,92, dd (9,6-3,1)	3''''''	70,8	3,72, dd (9,6-3,1)
4''	71,2	3,57, t (9,6)	4''''''	72,5	3,42, t (9,6)
5''	68,7	3,98, m	5''''''	68,7	4,00, m
6''	16,8	1,25, d (6,2)	6''''''	16,5	1,27, d (6,3)
	Glc I		C-28	Glc III	
1'''	104,2	4,50, d (7,9)	1''''''''	94,3	5,36, d (8,2)
2'''	74,7	3,41, m	2''''''''	72,4	3,35, m
3'''	82,1	3,55, t (9,0)	3''''''''	76,7	3,43, m
4'''	68,3	3,39, t (9,5)	4''''''''	69,5	3,46, t (8,6)
5'''	76,3	3,32, m	5''''''''	76,4	3,52, m
6'''	60,9	3,72, dd (12,8-5,7) 3,86, d (12,8)	6''''''''	68,0	3,78, dd (11,5-4,7) 4,13, m
	Rha II		Glc IV		
1''''	100,9	5,22, d (2,1)	1''''''''''	103,2	4,36, d (7,8)
2''''	70,8	3,98, dd (3,3-2,1)	2''''''''''	73,7	3,23, dd (8,9-7,8)
3''''	70,9	3,96, dd (9,4-3,3)	3''''''''''	76,6	3,37, m
4''''	82,3	3,64, t (9,4)	4''''''''''	70,1	3,31, t (8,6)
5''''	67,2	4,11, m	5''''''''''	76,6	3,26, m
6''''	16,6	1,35, d (6,2)	6''''''''''	61,3	3,68, dd (11,9-5,6) 3,86, m

III.1.1.4 Détermination structurale des composés Sp4 et Sp5

La détermination structurale des composés suivants (**Sp4** et **Sp5**) a permis d'attribuer les signaux caractéristiques de la même génine que précédemment, d'après l'analyse des spectres de masse et de RMN-1D et -2D. Par conséquent, dans les déterminations structurales des composés suivants, nous nous limiterons aussi à l'étude des chaînes osidiques en positions 3 et 28 de la génine

Les composés **Sp4** et **Sp5** sont des isomères d'après leurs spectres de masse HR-ESI-MS en mode positif (Figure III-37) qui révèlent respectivement des ions pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 1631,7701 et 1631,7699 (calculé, 1631,7692) correspondant à une formule brute $C_{75}H_{123}O_{38}$.

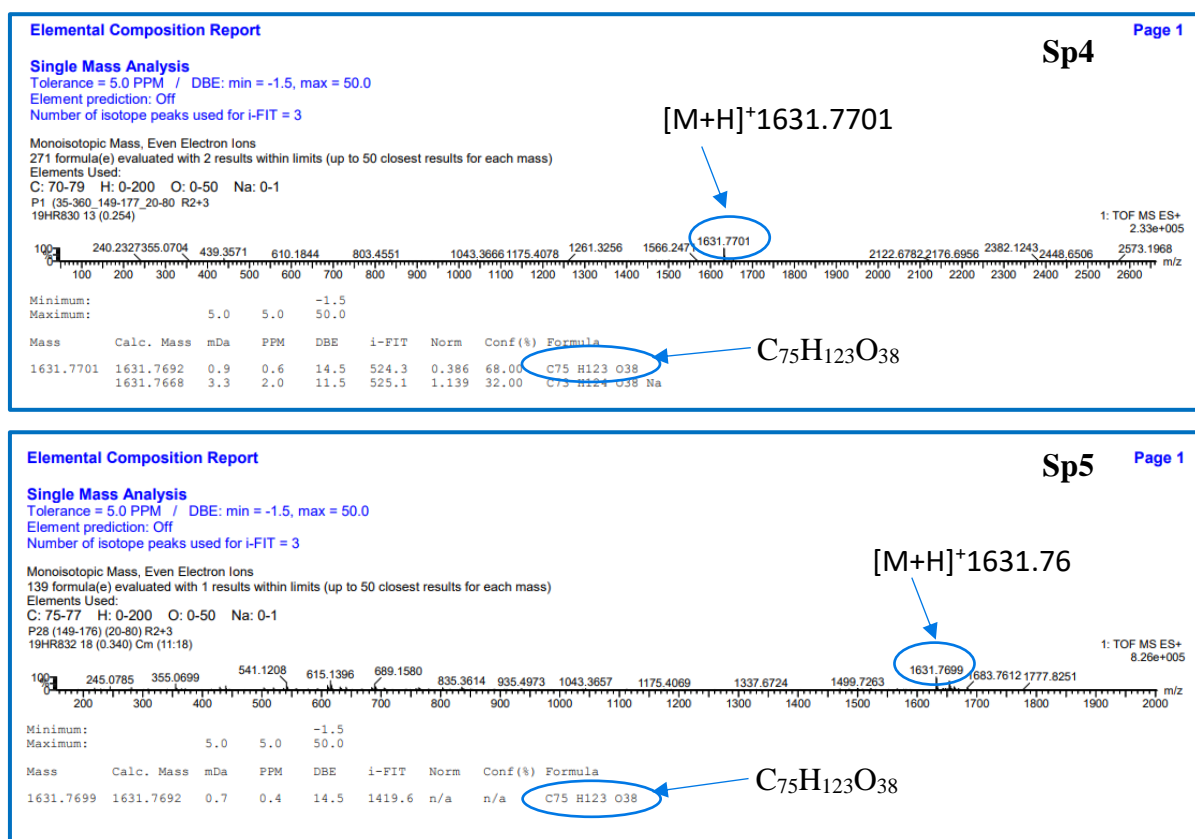


Figure III-37 : Spectres de masse HR-ESI-MS des composé **Sp4** et **Sp5**.

➤ Elucidation du composé **Sp4**

Le spectre RMN 1H (Figure III-38) montre les signaux de huit protons anomériques à δ_H 4,35 ppm (d , $J=7,8$ Hz), δ_H 4,36 ppm (d , $J=7,8$ Hz), δ_H 4,38 ppm (d , $J=7,1$ Hz), δ_H 4,41 ppm (d , $J=7,8$ Hz), δ_H 4,49 ppm (d , $J=7,6$ Hz), δ_H 5,18 ppm (d , $J=1,5$ Hz), δ_H 5,37 ppm (d , $J=8.2$ Hz) et δ_H 5,39 ppm (d , $J=1.3$ Hz).

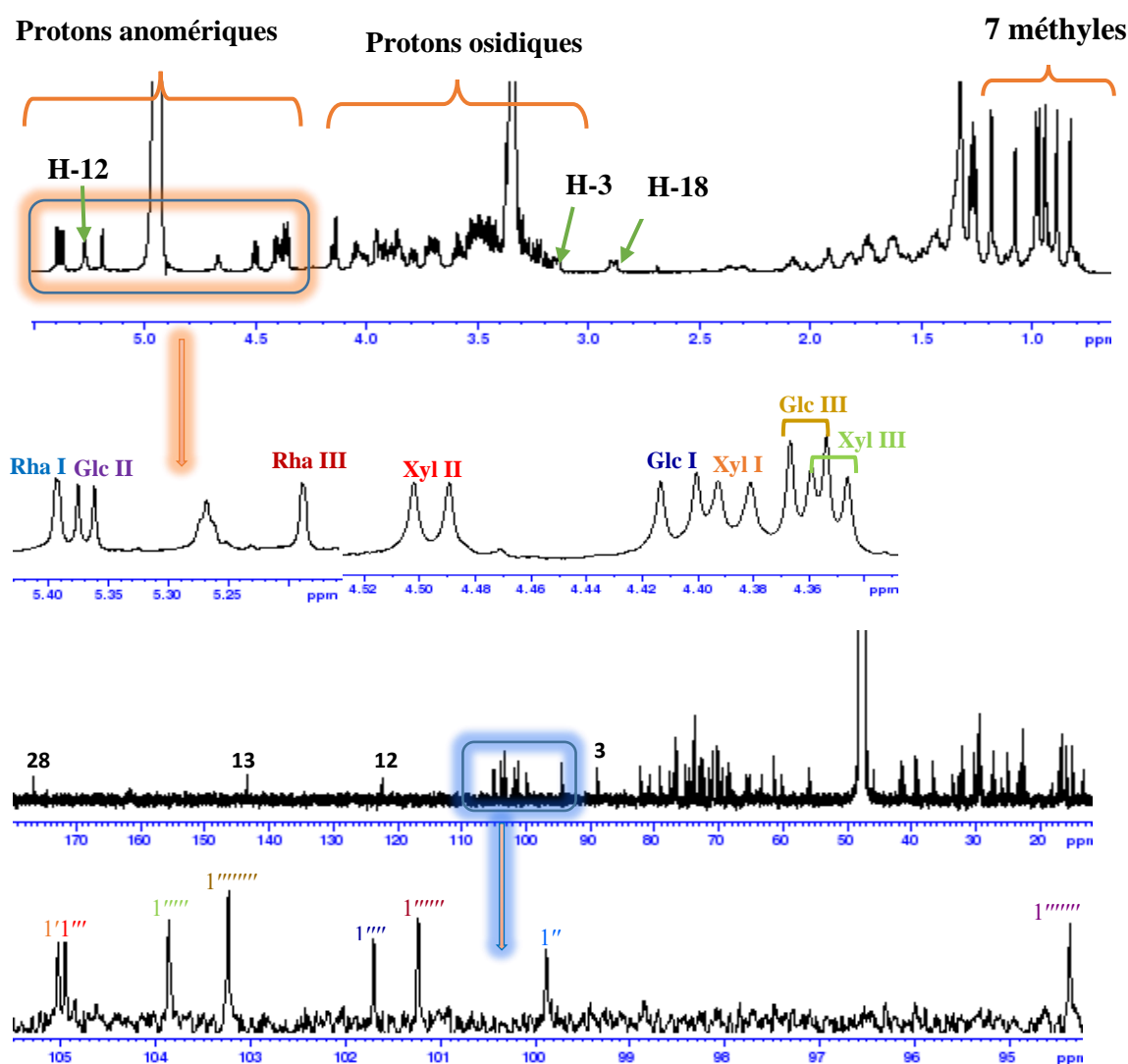


Figure III-38 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé Sp4.

L'expérience HSQC J -modulé (Figure III-39) permet de déterminer leurs huit carbones anomériques à δ_{C} 103,8, 103,2, 105,0, 101,7, 104,9, 101,2, 94,3, 99,9 ppm attestent la présence de huit sucres.

Les systèmes de spins de ces oses ont été caractérisés à partir de l'analyse des spectres COSY, TOCSY, et ROESY. Les déplacements chimiques des carbones attribués à l'aide des spectres HSQC J -modulé, HSQC-TOCSY ont permis de les identifier comme suit :

- Trois β -D-xylose dont les protons anomères du **Xyl I**, **Xyl II** et **Xyl III** résonants à δ_{H} 4,38 ppm ($d, J=7,1$ Hz), δ_{H} 4,49 ppm ($d, J=7,6$ Hz) et δ_{H} 4,35 ppm ($d, J=7,8$ Hz) respectivement.

- Deux α -L-rhamnose dont les protons anomères du **Rha I** et **Rha II** résonants à δ_{H} 5,39 ppm ($d, J=1,3$ Hz) et δ_{H} 5,18 ppm ($d, J=1,5$ Hz) respectivement.

-Trois β -D-glucose dont les protons anomères du **Glc I**, **Glc II** et **Glc III** résonants à $\delta_{\text{H}} 4,41$ ppm ($d, J=7,8$ Hz), $\delta_{\text{H}} 5,37$ ppm ($d, J=8,2$ Hz) et $\delta_{\text{H}} 4,36$ ppm ($d, J=7,8$ Hz) respectivement.

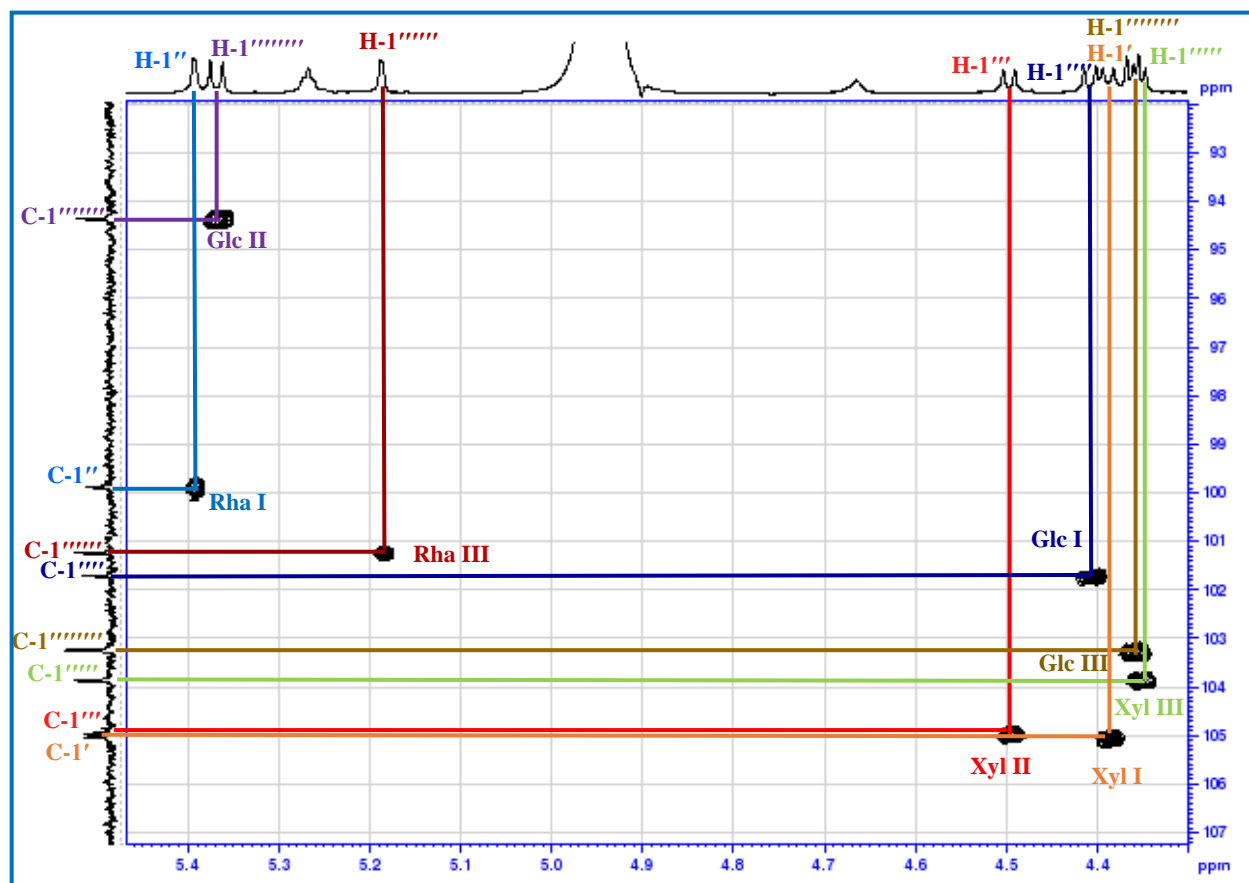


Figure III-39 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp4**.

L'analyse des spectres HMBC et ROESY (Figure III-43, III-44) révèle une chaîne trisaccharidique en C-3 en grande partie similaire à celles de **Sp1** et. En effet, le motif structural **Xyl II-(1→3)-Rha I-(1→2)- Xyl I** est retrouvé chez les deux composés. La particularité du **Sp4** réside dans le fait que les déplacements chimiques du proton et carbone 4''' du **Xyl II** sont déblindés par rapport à ceux du **Sp1** [Sarikahya et al., 2014](Tableau III-4). Cette constatation suggère le motif suivant **Glc I-(1→4)- Xyl II-(1→3)-Rha I-(1→2)- Xyl**.

Les corrélations HMBC et ROESY, respectivement à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ Glc I- **H-1'''** ($\delta_{\text{H}} 4,41$)/Xyl II- **C-4'''** ($\delta_{\text{C}} 76,9$) et $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$ Glc I- **H-1'''** ($\delta_{\text{H}} 4,41$)/Xyl II- **H'''** ($\delta_{\text{H}} 3,71$) prouvant la liaison entre Xyl II-4''' Glc I- **H-1'''**.

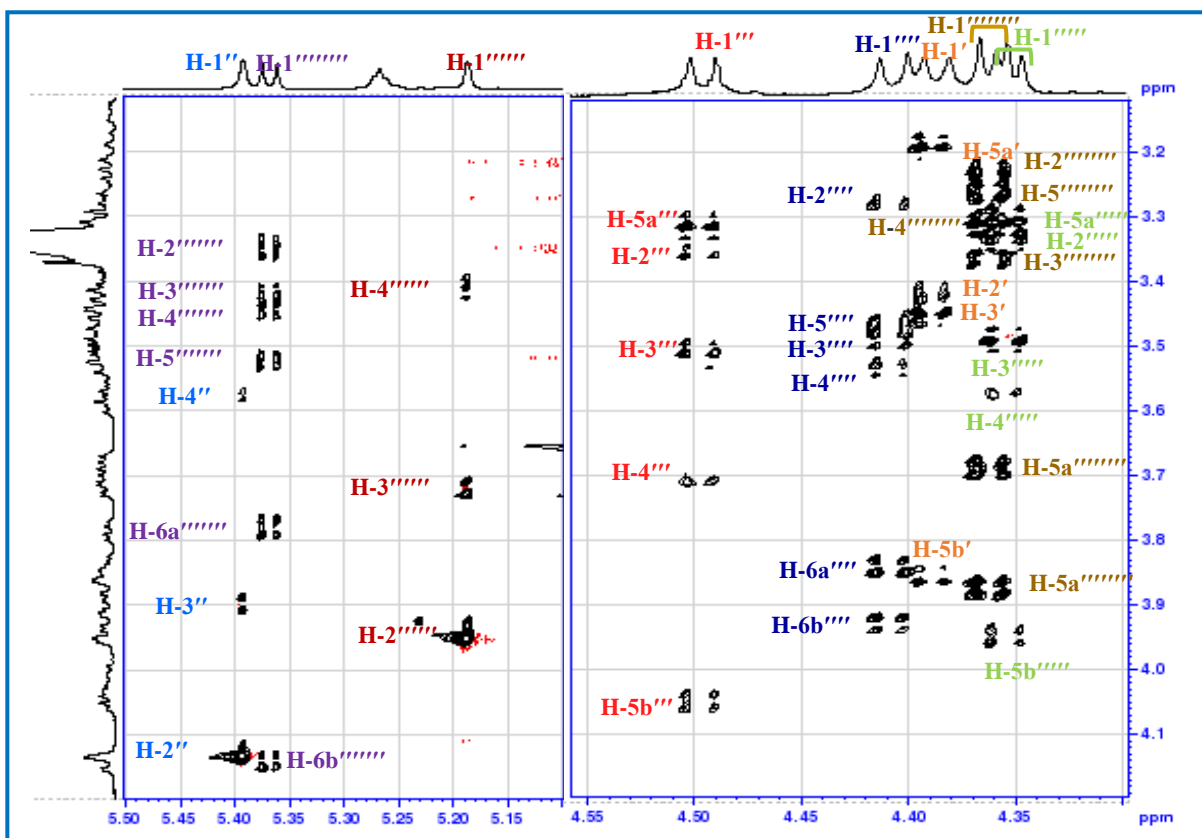


Figure III-40 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp4.

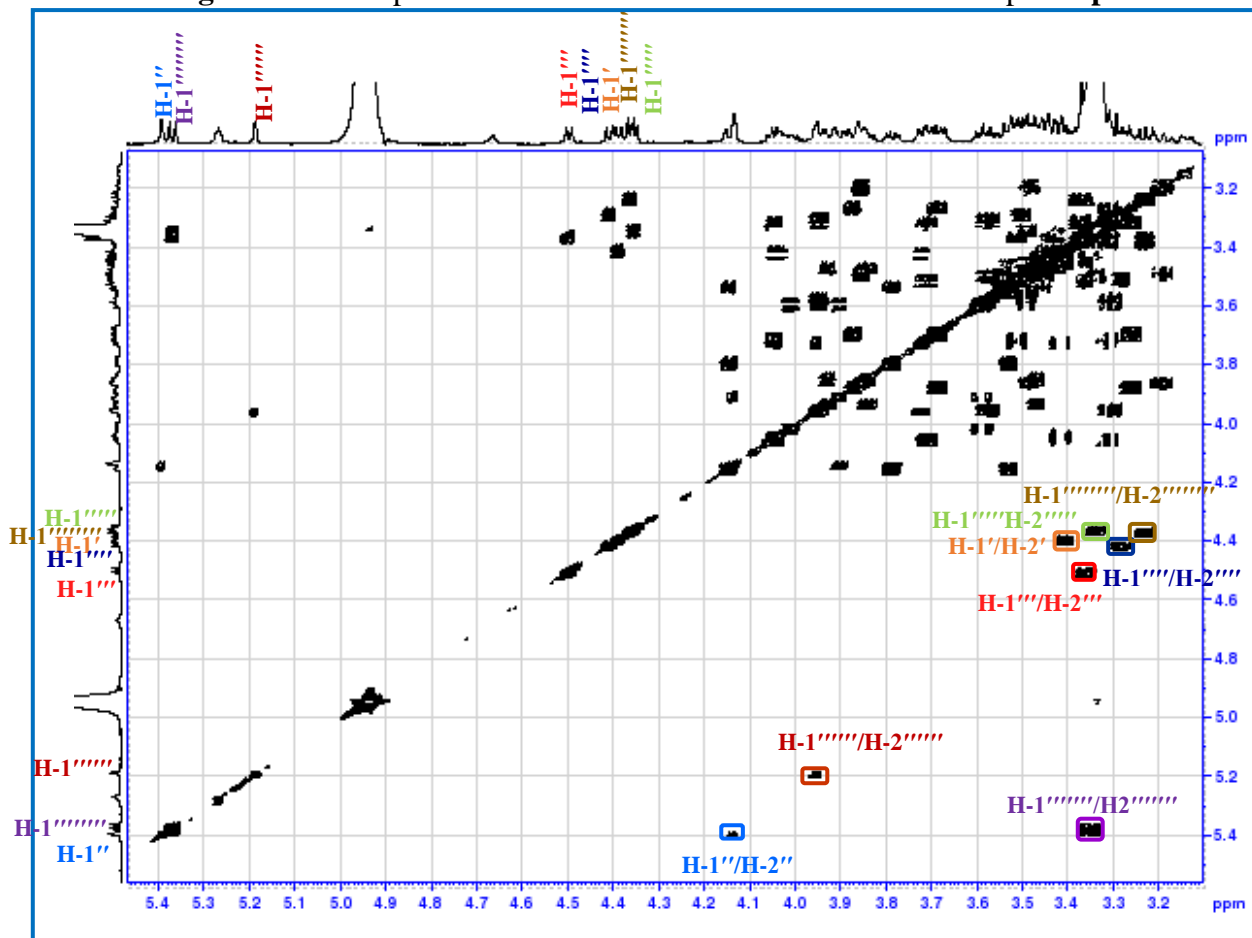


Figure III-41 Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp4.

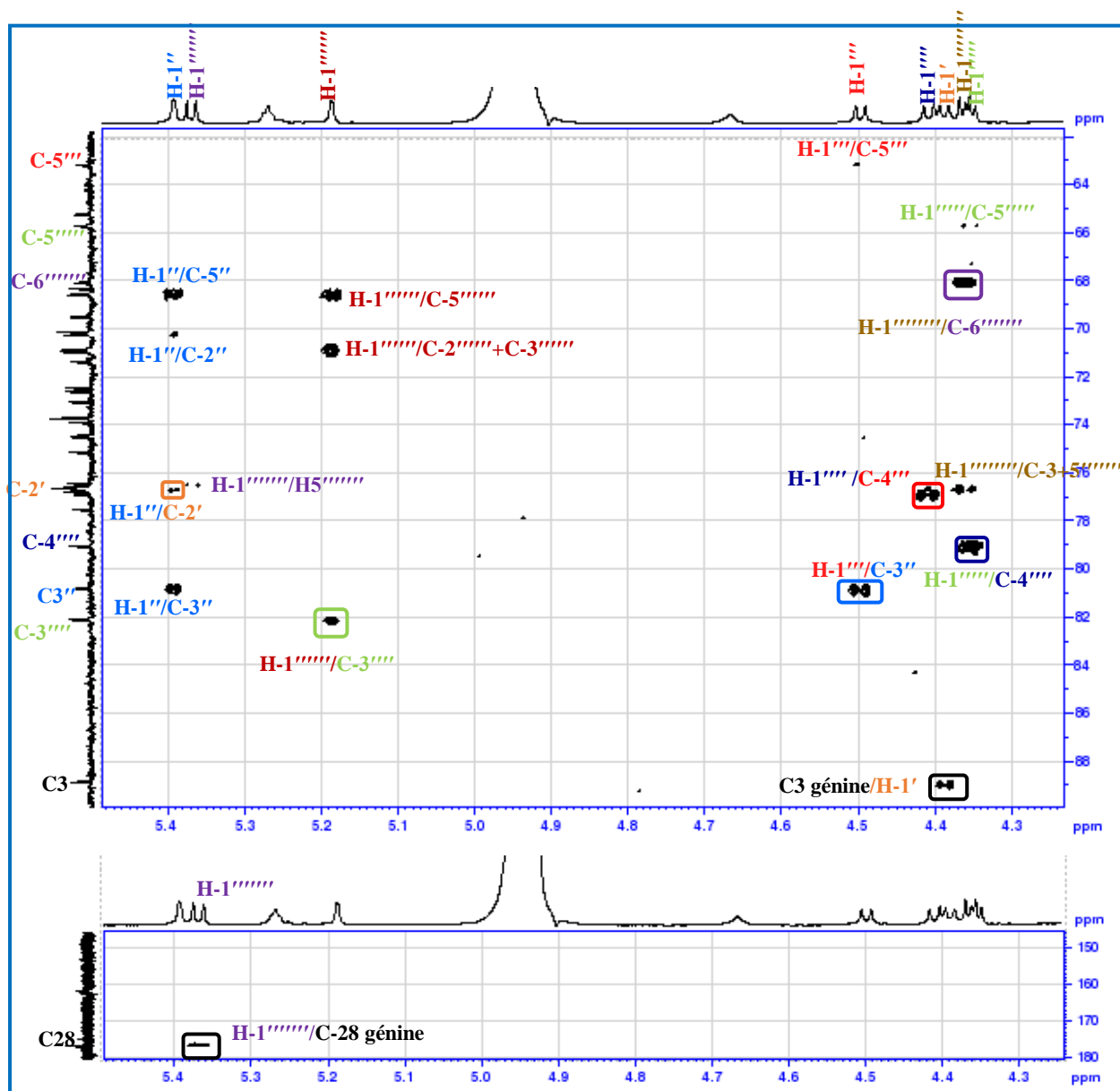


Figure III-43 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé **Sp4**.

Ces corrélations montrent que la séquence de la chaîne « éther » liée en C-3 de la génine est - [Rha III -(1→3)-Xyl III - (1→4)- Glc I - (1→4)- Xyl II - (1→3)- Rha I -(1→ 2) Xyl I] et que la chaîne « ester » en C-28 est [β -D-Glc III -(1→6)- β -D-Glc II]. Ces enchainements osidiques sont justifiés également par les effets rOe observés sur le spectre ROESY (Figure III-44) entre:

H-1'''''' Rha II terminal et **H-3''''''** Xyl III,

H-1'''''' Xyl III et **H-4''''** Glc I,

H-1'''' Glc I et **H-4''''** Xyl II,

H-1'''' Xyl II et **H-3''** Rha I,

H-1'' Rha I et **H-2'** Xyl I, et **H-1'** Xyl I et **H-3** de la génine.

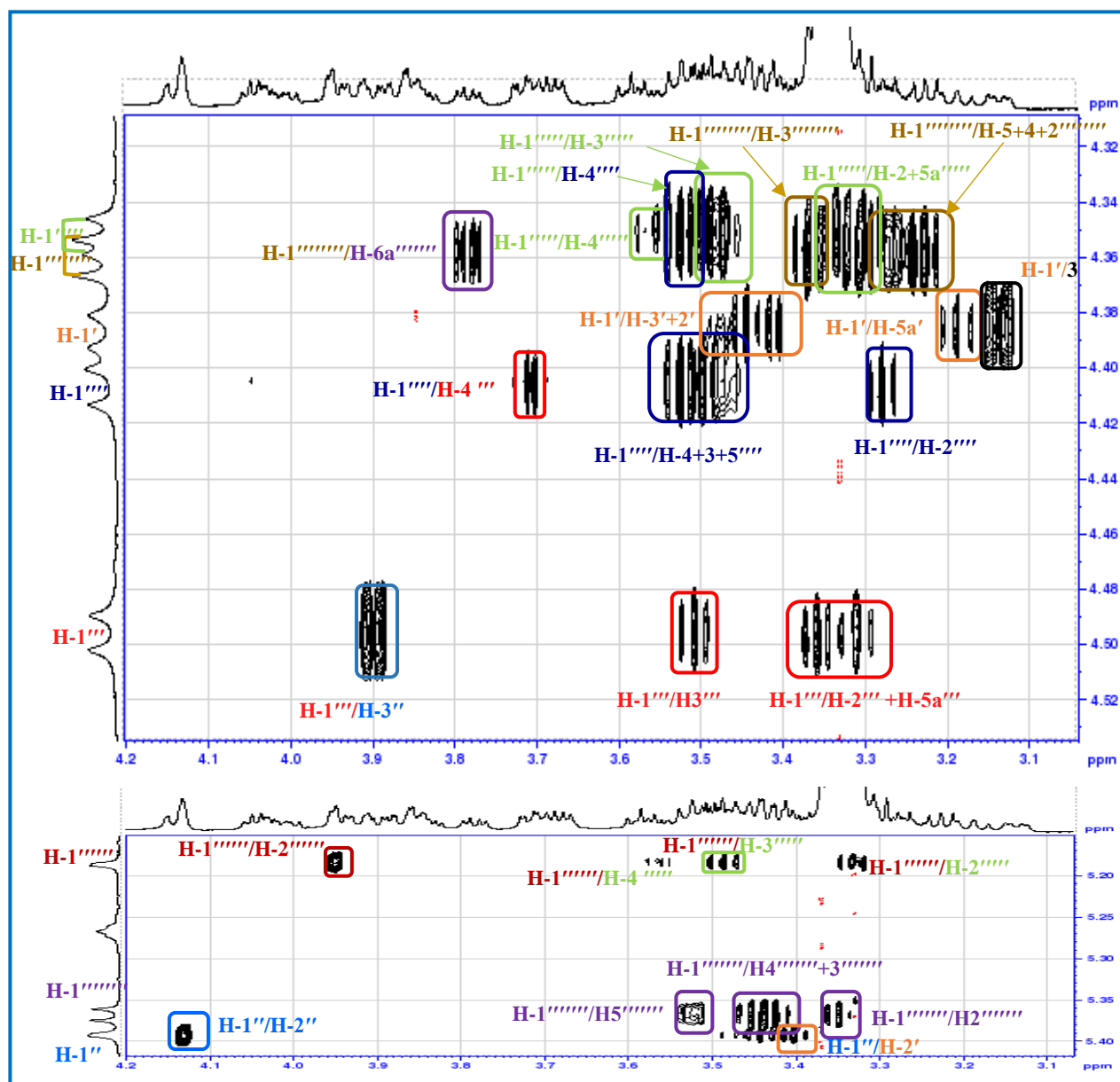
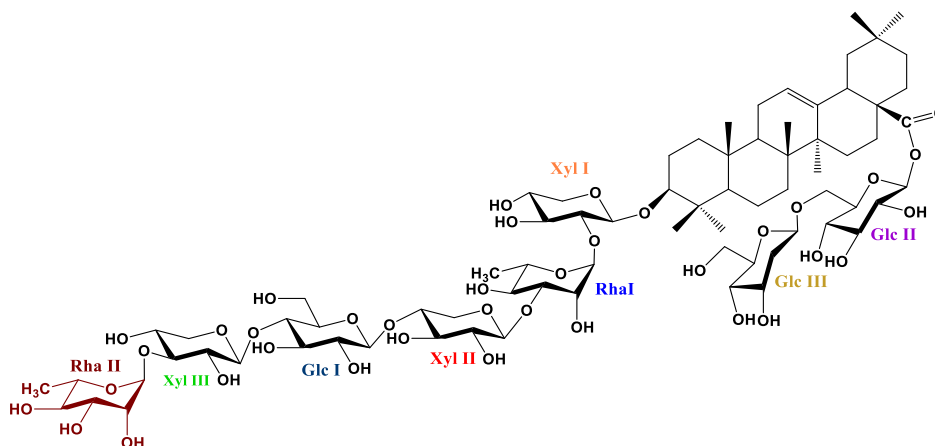


Figure III-44 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp4.

L'ensemble de ces données spectrales nous permet d'attribuer la structure finale du composé Sp4 à l'acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. Une nouvelle saponine désignée par **Semipapposide D**. [Bendamene et al., 2020].



Sp4 : Semipapposide D

➤ Elucidation du composé Sp5

L'étude conjointe des spectres RMN¹H et ¹³C (Figure III-45) du composé Sp5 confirme la présence aussi de huit unités osidiques dont leurs protons anomériques résonnent à δ_H 4,35 ppm ($d, J=7,7$ Hz), δ_H 4,36 ppm ($d, J=7,8$ Hz), δ_H 4,41 ppm ($d, J=7,8$ Hz), δ_H 4,50 ($d, J=4,5$ Hz), δ_H 4,51 ppm ($d, J=7,3$ Hz), δ_H 5,18 ppm ($d, J=1,2$ Hz), δ_H 5,21 ppm (*brs*) et δ_H 5,37 ppm ($d, J=8,2$ Hz) qui corrélient sur le spectre HSQC avec huit carbones anomériques respectivement à 103,9, 103,2, 101,7, 103,9, 104,9, 101,2, 100,0, 94,3 ppm (Figure III-46, Tableau III-4).

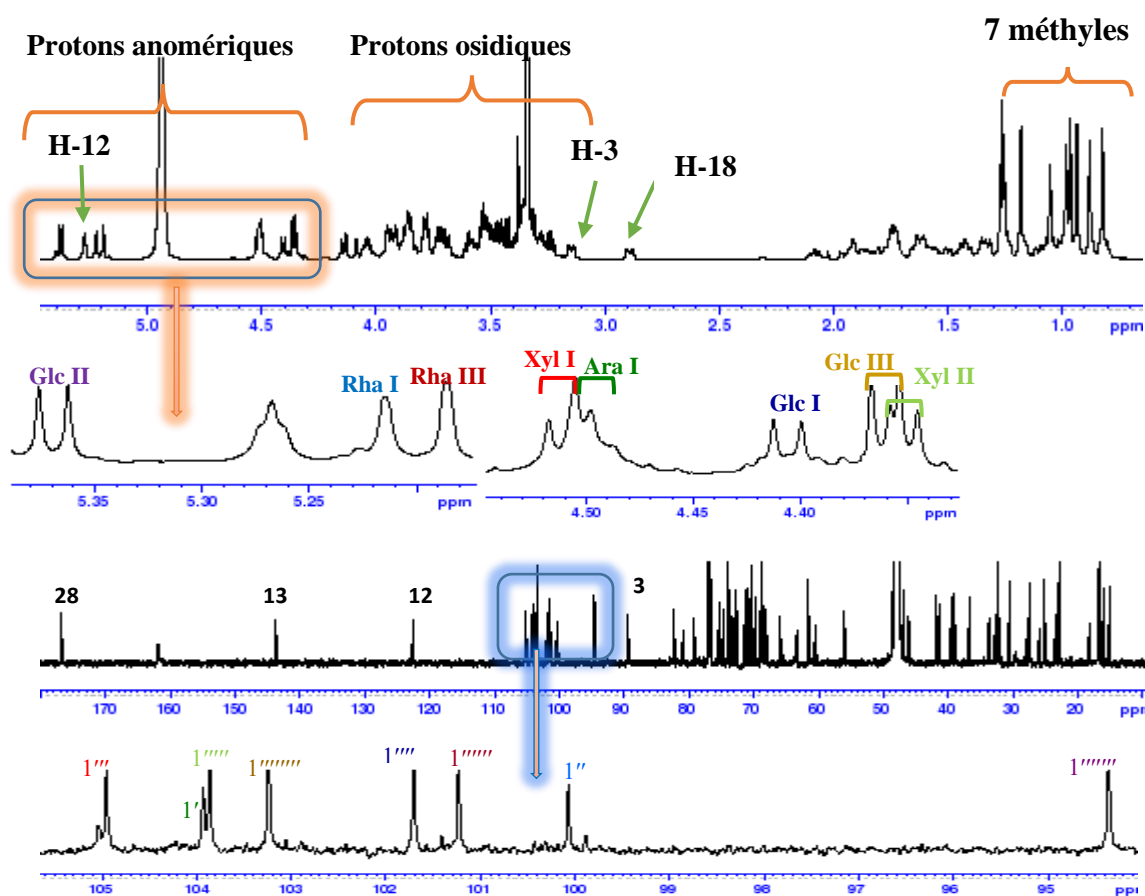


Figure III-45: Spectre RMN ¹H et ¹³C du composé Sp5.

Les huit sucres ont pu être caractérisés directement d'après l'analyse des spectres COSY, TOCSY, HSQC et HMBC de **Sp5**. À partir de chaque proton anomérique, nous avons donc identifié :

-Trois β -D-glucose :

- ✓ Deux formants la chaîne de gentibioside lié au C-28 de l'aglycone ; un β -D-glucose terminale et un β -D-glucose substitué en C-6'''''' ($\delta_{C-6''''''}$ 68,0 ppm).
- ✓ Un β -D-glucose substitué en C-4'''' ($\delta_{C-3''''}$ 79,0 ppm).

-Deux β -D-xylose ; l'un substitué en C3'''' ($\delta_{C-3''''}$ 82,1 ppm) et l'autre en C-4'''' ($\delta_{C-6''''}$ 76,9 ppm).

-Deux α -L-rhamnose :

- ✓ Un α -L-rhamnose substitué en C3'' ($\delta_{C-3''}$ 80,7 ppm) dont son proton anomérique est blindé par rapport à celui du composé **Sp4** laisse supposer un changement dans son attachement.
- ✓ Un α -L-rhamnose terminal.
- ✓ Un α -L-arabinose lié au C3 de la génine C2.

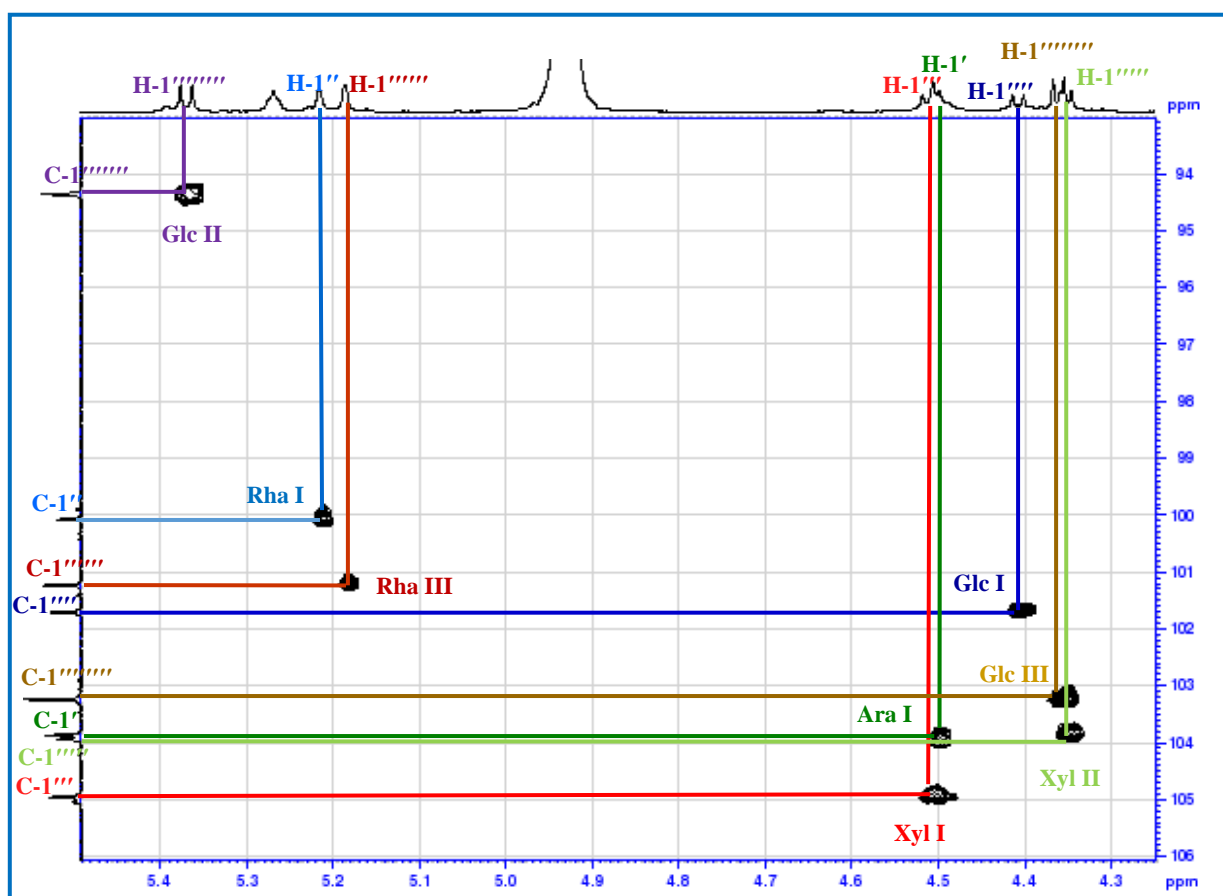


Figure III-46 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp5**.

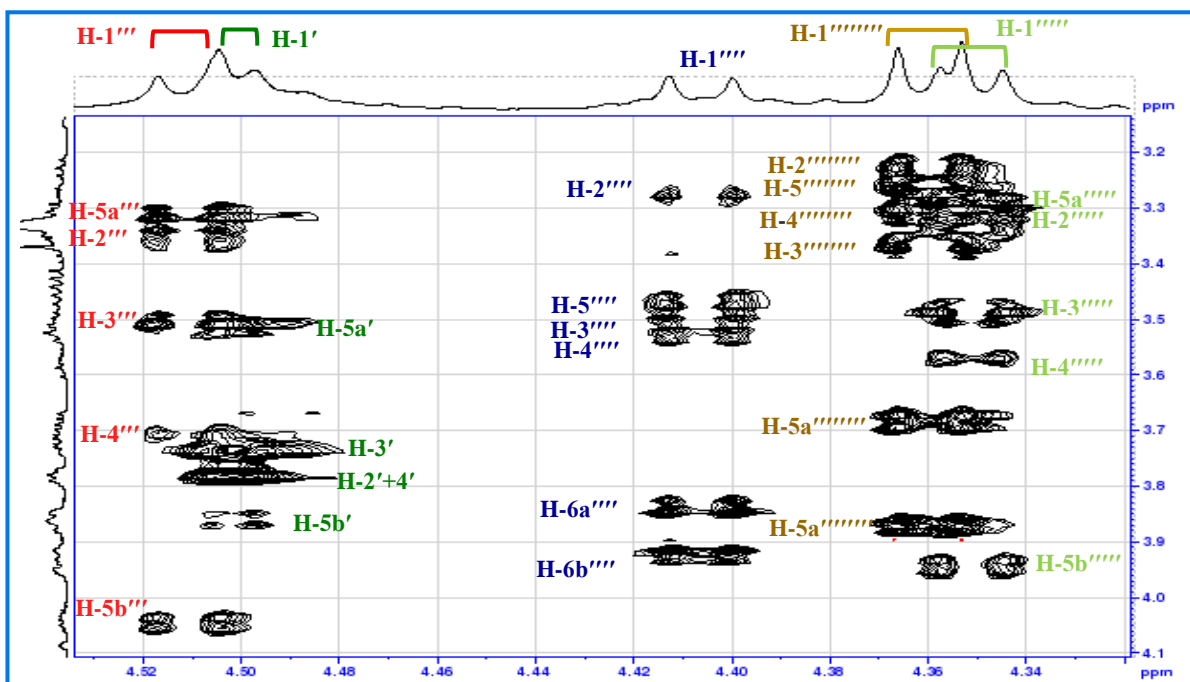


Figure III-47 : Spectre TOCSY de la zone des anomères du composé Sp5.

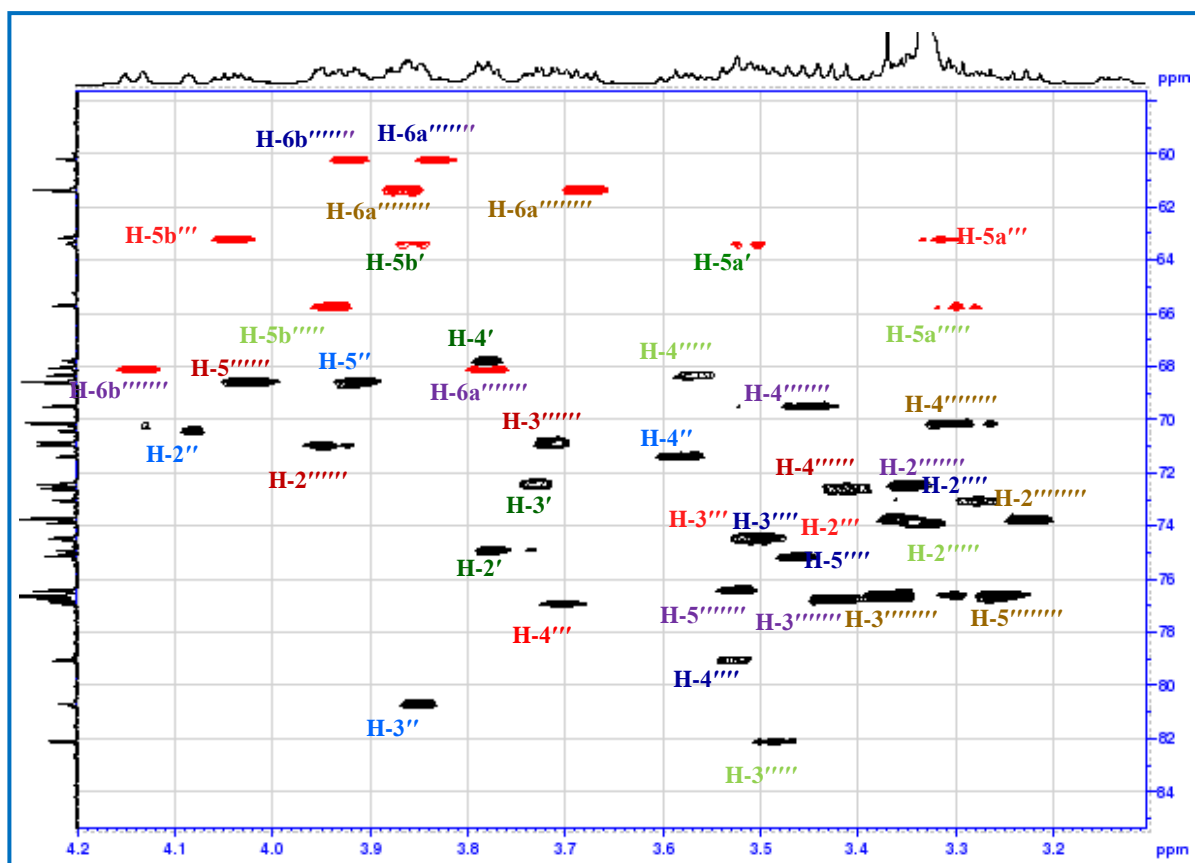


Figure III-48 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé Sp5.

L'analyse détaillée des spectres HMBC et ROESY (Figure III-49, III-50) révèlent l'existence d'un motif pentasaccharide **Rha III-(1→3)-Xyl III-(1→4)-Glc I-(1→4)-Xyl II-(1→3)- Rha** conservé entre **Sp5** et le **Sp4**. La particularité du **Sp5** réside dans le fait qu'un **Ara**, vient substituer un **Xyl I** en sa position C-3 de la génine comme attesté par les corrélations HMBC et ROESY à δ_H/δ_C (4,50) Ara-H-1' / (δ_C 89,2) C-3 et δ_H/δ_H (δ_H 4,50) Ara-H-1' / (δ_H 3,13dd, $J=11,7, 4,3\text{Hz}$ H-3), respectivement.

Le spectre HMBC (Figure III-49) permet d'établir les points de branchement entre ces sucres et la génine et cela par l'observation des couplages $^3J_{H-C}$ suivants entre :

H-1'''''' Rha II terminal et **C-3''''''** Xyl II,

H-1'''''' Xyl II et **C-4''''** Glc I,

H-1'''' Glc I et **C-4'''** Xyl I,

H-1''' Xyl I et **C-3''** Rha I ,

H-1'' Rha I **C-2' Ara**,

H-1' Ara I et **C-3** de la génine.

Indique un enchainement **Rha II-(1→3)-Xyl II-(1→4)-Glc I-(1→4)-Xyl I-(1→3)- Rha I-(1→2) Ara** accroché en position 3 de l'acide oléanolique.

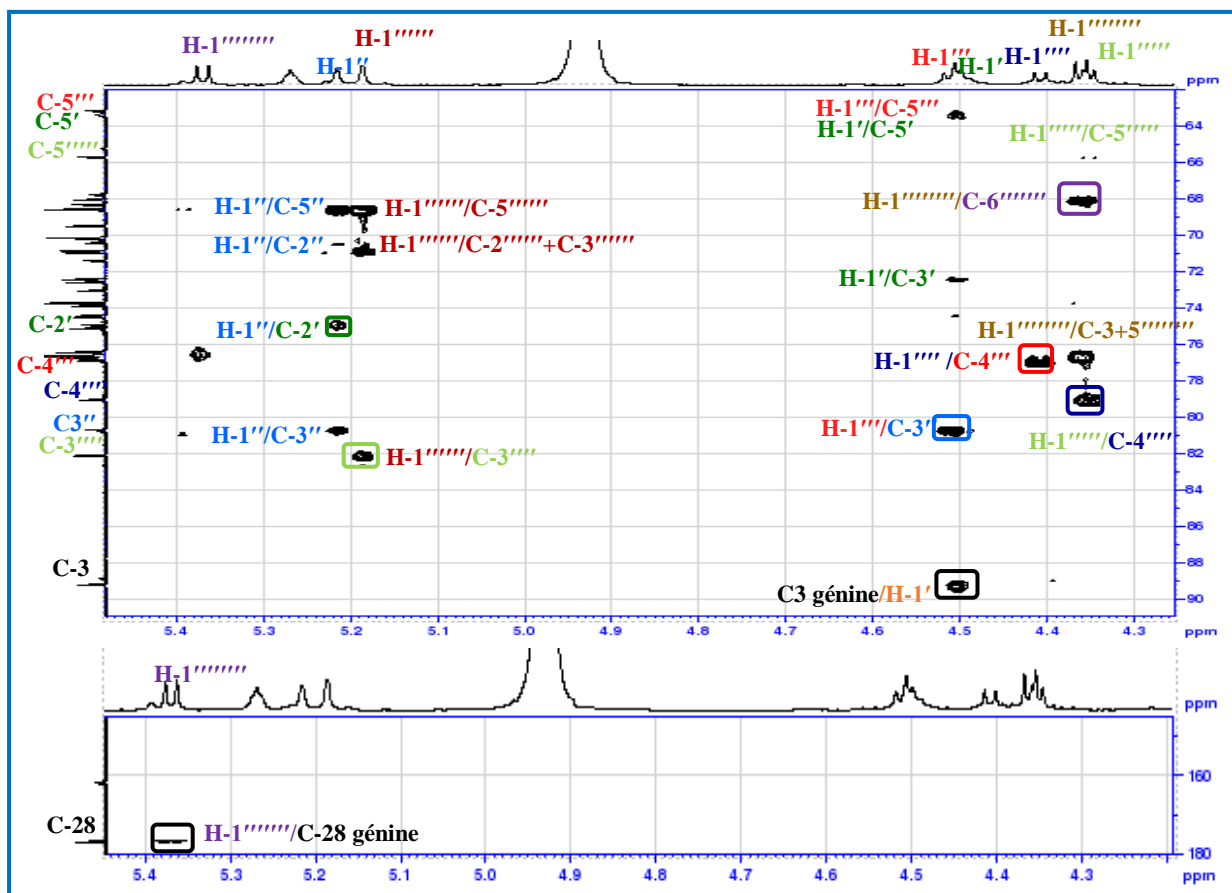


Figure III-49 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé **Sp5**.

L'analyse du spectre ROESY (Figure III-50) permet de confirmer cet enchaînement par la visualisation d'effets rOe entre:

H-1'''''' Rha II terminal et **H-3''''''** Xyl II,

H-1'''''' Xyl II et **H-4''''** Glc I,

H-1'''' Glc I et **H-4'''** Xyl I,

H-1''' Xyl I et **H-3''** Rha I,

H-1'' Rha I et **H-2'** Xyl I,

H-3 de la génine et **H-1'** Ara.

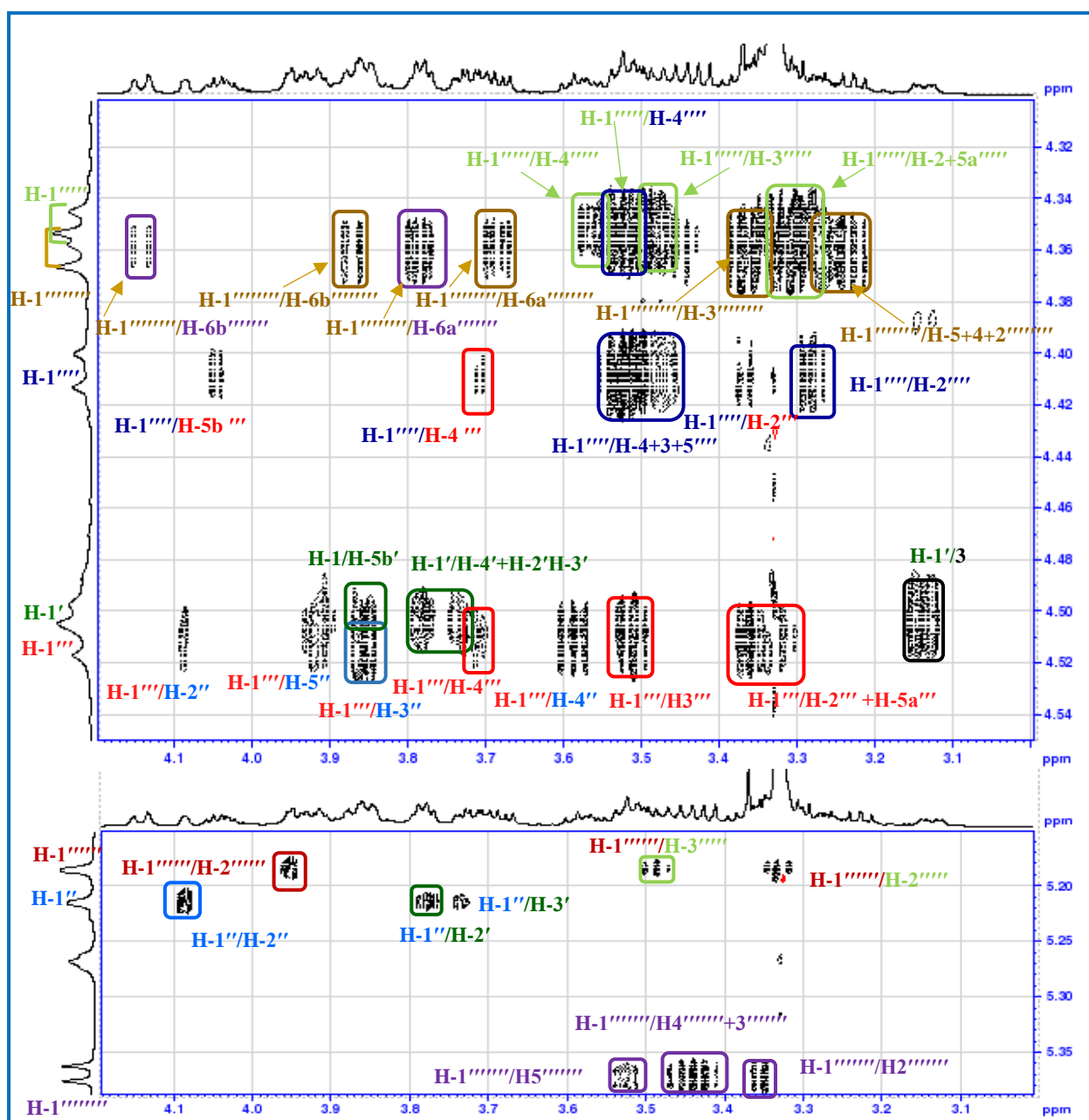
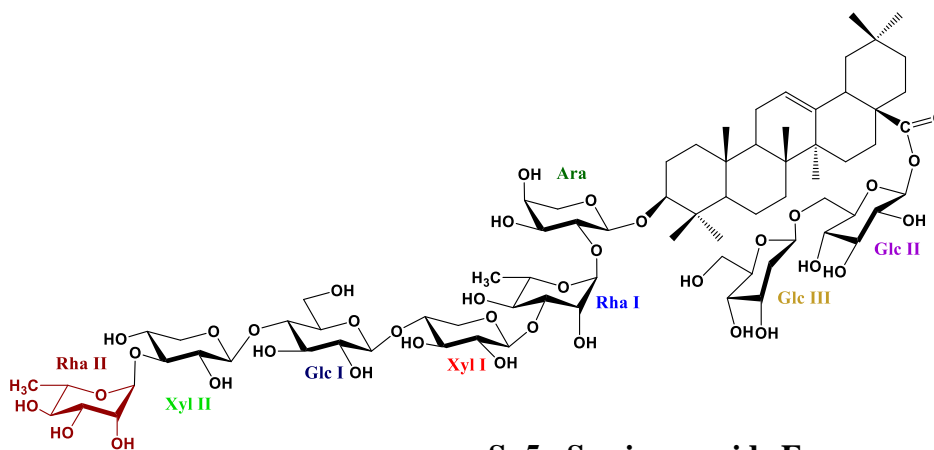


Figure III-50 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé Sp5.

L'ensemble des informations obtenues par les analyses conjointe des spectres du composé **Sp5** confirment qu'il s'agit d'un composé de structure nouvelle identifié à l'acide 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. **Semipapposide E** [Bendamene et al., 2020].



Sp5 : Semipapposide E

Tableau III-4: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique des composés Sp4 et Sp5 dans CD₃O.

Partie osidique											
Composé Sp4						Composé Sp5					
Position	δ_C	$\delta_H(J \text{ en Hz})$	Position	δ_C	$\delta_H(J \text{ en Hz})$	Position	δ_C	$\delta_H(J \text{ en Hz})$	Position	δ_C	$\delta_H(J \text{ en Hz})$
C-3	Xyl I			Xyl III		Ara			Xyl III		
1'	105,0	4,38, d (7,1)	1''''	103,8	4,35, d (7,8)	1'	103,9	4,50, d (4,5)	1''''	103,9	4,35, d (7,7)
2'	76,6	3,41, dd (8,3-7,1)	2''''	73,9	3,33, m	2'	74,9	3,77, m	2''''	73,9	3,33, m
3'	77,5	3,44, t (8,3)	3''''	82,1	3,48, t (8,6)	3'	72,4	3,73, dd (7,3-3,3)	3''''	82,1	3,48, t (9,2)
4'	70,3	3,48, m	4''''	68,3	3,57 m	4'	67,7	3,78, m	4''''	68,3	3,57, m
5'	65,2	3,19, dd (12,5-9,9)	5''''	65,7	3,30, t (11,1)	5'	63,3	3,52, m	5''''	65,7	3,30, t (10,6)
		3,85, dd (12,5-2,4)			3,94, dd (11,1-3,8)			3,86, dd (9,9- 2,1)			3,93, dd (10,6-4,1)
	Rha I			Rha II		Rha I			Rha II		
1''	99,9	5,39, d (1,3)	1''''''	101,2	5,18, d (1,5)	1''	100,0	5,21, brs	1''''''	101,2	5,18, d (1,2)
2''	70,2	4,13, m	2''''''	70,9	3,95, dd (3,3-1,5)	2''	70,4	4,08, dd (3,1-1,9)	2''''''	70,9	3,95, dd (3,3-1,2)
3''	80,8	3,88, dd (7,1-3,1)	3''''''	70,8	3,72, dd (9,5-3,3)	3''	80,7	3,85, m	3''''''	70,8	3,72, dd (9,4-3,3)
4''	71,3	3,58, t (9,5)	4''''''	72,6	3,41, t (9,5)	4''	71,4	3,59, t (9,6)	4''''''	72,6	3,41, t (9,4)
5''	68,6	4,02, m	5''''''	68,5	4,04, m	5''	68,6	3,92, m	5''''''	68,6	4,03, m
6''	16,7	1,25, d (6,2)	6''''''	16,5	1,26, d (6,2)	6''	16,6	1,25, d (6,4)	6''''''	16,5	1,26, d (6,3)
	Xyl II		C-28	Glc II		Xyl I			C-28	Glc II	
1'''	104,9	4,49, d (7,6)	1''''''''	94,3	5,37, d (8,2)	1'''	104,9	4,51, d (7,3)	1''''''''	94,3	5,37, d (8,2)
2'''	73,7	3,36, m	2''''''''	72,4	3,35, m	2'''	73,7	3,36, m	2''''''''	72,4	3,35, m
3'''	74,5	3,51, t (8,7)	3''''''''	76,7	3,43, m	3'''	74,4	3,51, t (8,7)	3''''''''	76,7	3,43, t (8,7)
4'''	76,9	3,71, m	4''''''''	69,5	3,44, t (8,7)	4'''	76,9	3,71, m	4''''''''	69,5	3,45, t (8,7)
5'''	63,1	3,31, t (11,8)	5''''''''	76,4	3,52, m	5'''	63,1	3,32, t (11,8)	5''''''''	76,4	3,52, m
		4,04, dd (11,8-5,4)						4,04, dd (11,8-5,6)			
	Glc I		6''''''''	68,0	3,77, dd (11,6-4,9)	Glc I			6''''''''	68,0	3,78, dd (11,3-5,2)
					4,14, dd (11,6-1,7)						4,14, dd (11,3-1,9)
1''''	101,7	4,41, d (7,8)		Glc III		1''''	101,7	4,41, d (7,8)		Glc III	
2''''	73,0	3,28, dd (9,1-7,8)	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)	2''''	73,0	3,28, m	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)
3''''	74,4	3,50, t (9,1)	2''''''''	73,7	3,23, dd (9,1-7,8)	3''''	74,5	3,50, t (8,2)	2''''''''	73,7	3,23, dd (9,0-7,9)
4''''	79,0	3,53, t (9,5)	3''''''''	76,6	3,37, m	4''''	79,0	3,54, t (8,2)	3''''''''	76,6	3,37, t (9,0)
5''''	75,1	3,46, m	4''''''''	70,1	3,31, m	5''''	75,1	3,46, m	4''''''''	70,1	3,31, m
6''''	60,1	3,83, dd (12,4-4,5)	5''''''''	76,6	3,26, m	6''''	60,1	3,83, dd (12,0-4,5)	5''''''''	76,6	3,26, m
		3,92, dd (12,4-3,3)	6''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,5)			3,92, d (12,0)	6''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,4)
					3,85, dd (12,0-2,4)						3,87, dd (12,0-2,1)

III.1.1.5 Détermination structurale des composés Sp6 et Sp7

Sur les spectres ESI-MS à haute résolution en mode positif (Figure III-50) des bidesmosides de l'acide oléanolique **Sp6** et **Sp7** sont observés les ions pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 1807,8400 et 1807,8390 respectivement (calculé 1807,8377) correspondants à une formule brute $C_{82}H_{135}O_{43}$, laissant supposé un sucre supplémentaire par rapport à **Sp1** et **Sp2** (m/z ; 1645,7848, 1645,7884). La différence de masse de 162 *uma* suggère la présence d'un hexose supplémentaire, indiquant un nombre de neuf unités osidiques composants la partie osidique des saponosides **Sp6** et **Sp7**.

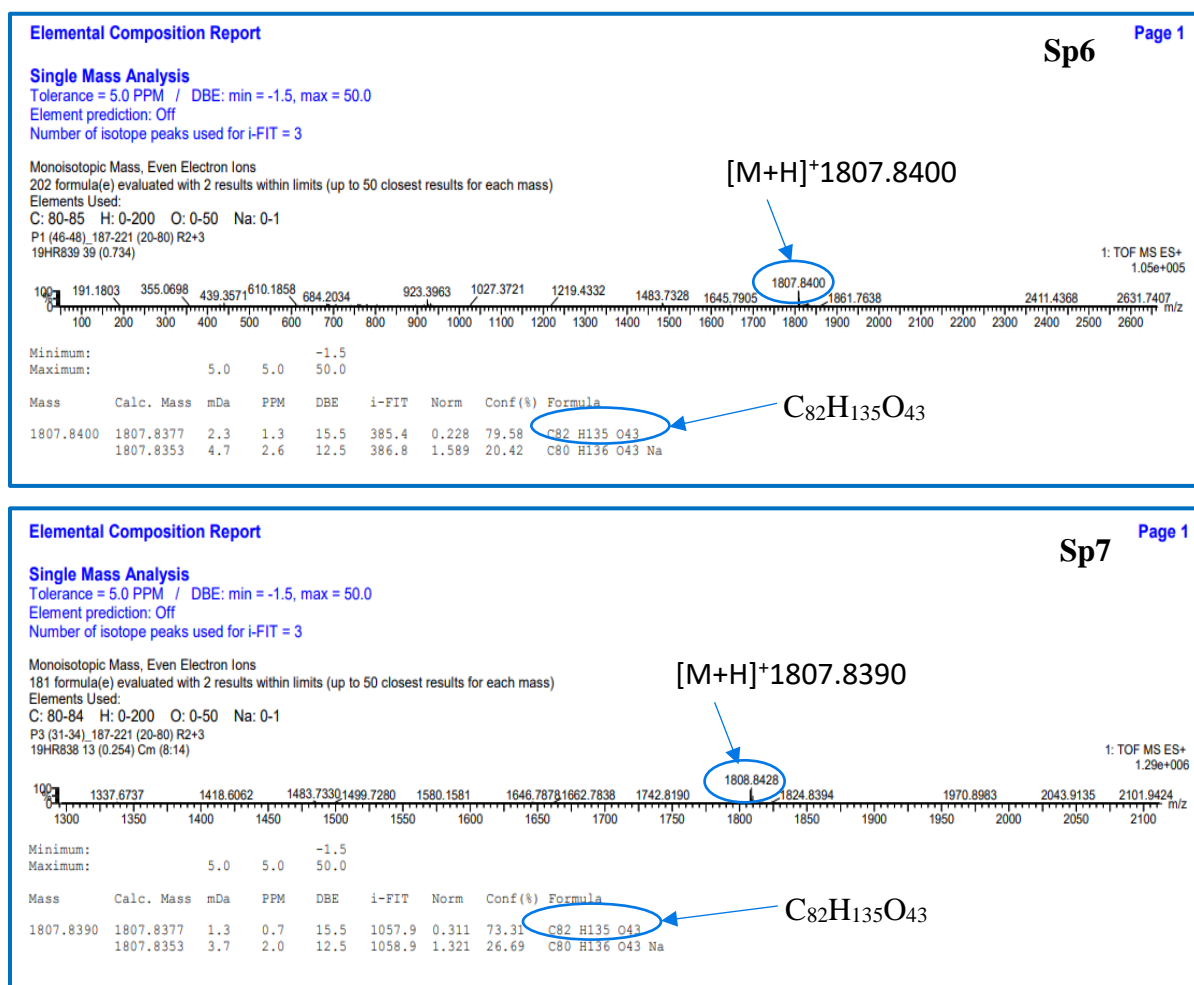


Figure III-51: Spectres de masse HR-ESI-MS des composés **Sp6** et **Sp7**.

➤ Elucidation du composé **Sp6**

Similairement à **Sp1**, **Sp6** est un bidesmoside de l'acide oléanolique substitué en position C-3 et C-28. Sur le spectre Dans la région des anomères le spectre RMN ^1H (Figure III-52) du **Sp6** présente des signaux de neuf protons anomériques corrèlent avec neuf carbones anomériques sur le spectre HSQC *J*-modulé (Figure III-52). Cela indique la présence de neuf sucres, identifiés par l'exploitation des spectres COSY, TOCSY et HSQC comme étant ; deux xylooses (Xyl I, Xyl II), trois rhamnoses (Rha I, Rha II, Rha III) trois glucoses (Glc I, Glc II, Glc III) et un (Gal) (Figure III-53, III-54, III-55, Tableau III-5).

Après analyse détaillée des spectres HMBC et ROESY (Figure III-56, III-57), **Sp6** montre de fortes similitudes structurales avec **Sp1**. Ces derniers partagent en effet un motif structural commun en C-3 et en C-28 avec la présence des oligosaccharides ; $[\alpha\text{-L-rhamnopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)-}\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{4)-}\alpha\text{-L-rhamnopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)-}\beta\text{-D-xylopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)-}\alpha\text{-L-rhamnopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-xylopyranoside}]$ et $[\beta\text{-D-glucopyranosyl -(1}\rightarrow\text{6)-}\beta\text{-D-glucopyranosyl}]$, respectivement. La particularité structurale de **Sp6** concerne la partie terminale de la chaîne osidique en C-3, cette dernière comporte un hexose surnuméraire.

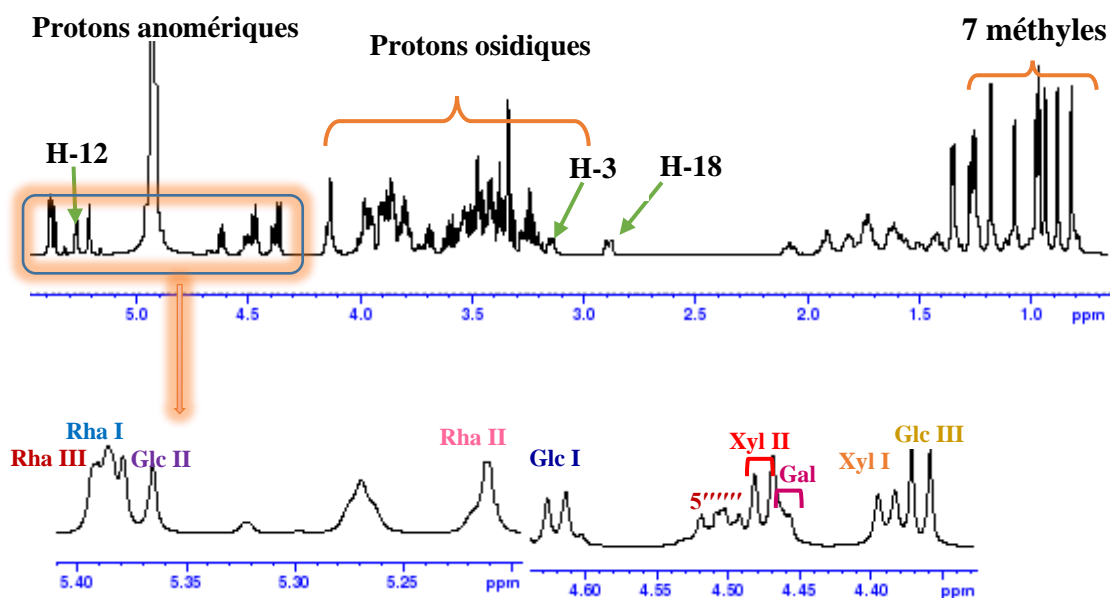


Figure III-52: Spectre RMN ^1H du composé **Sp6**.

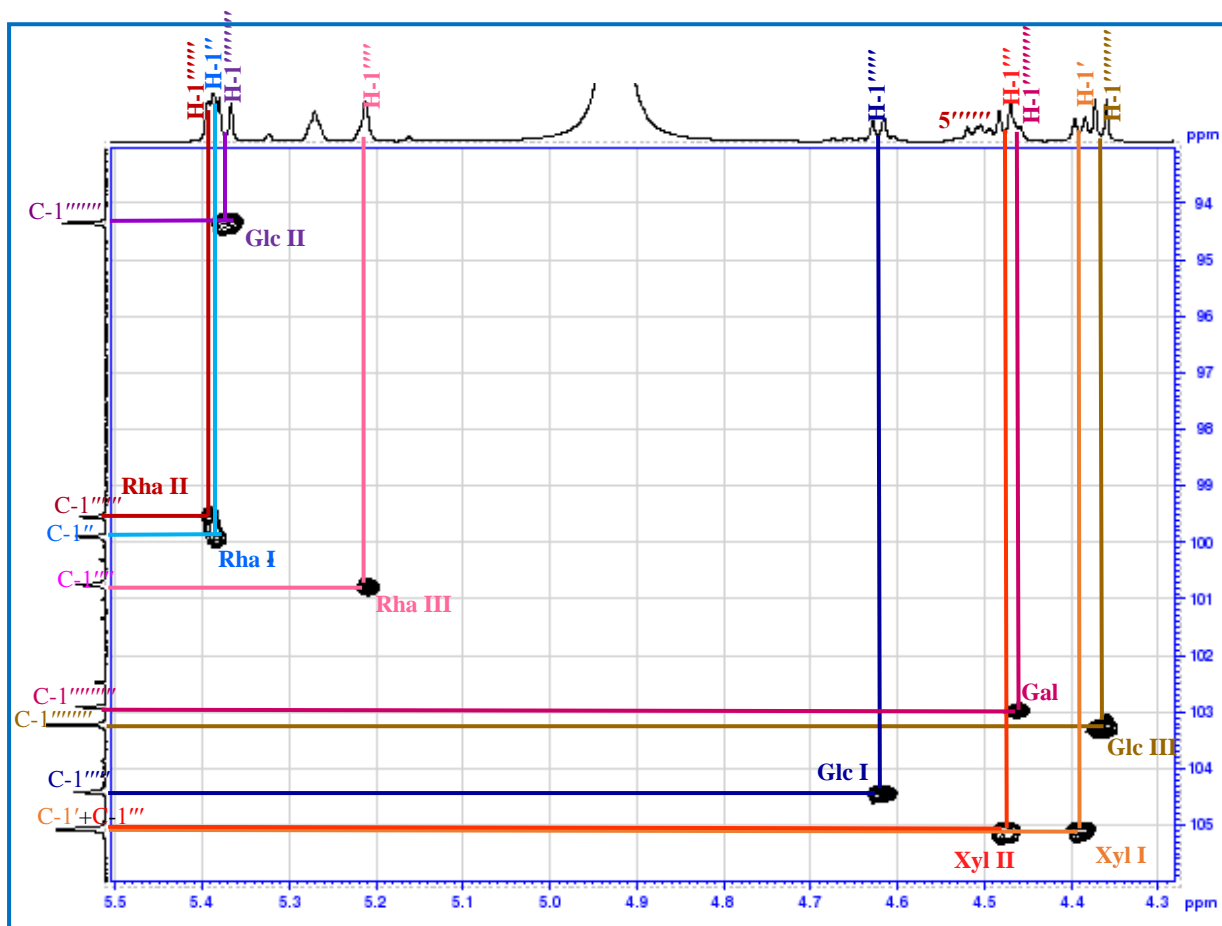


Figure III-53 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp6**.

L'identification de l'hexose supplémentaire est possible en partant de son proton anomérique H-1'''''''' à 4,46 ppm (d , $J = 7,6$ Hz) permettant de relier les corrélations $^3J_{\text{H-H}}$ sur le spectre COSY. La difficulté de cette analyse réside dans le recouvrement très fort des signaux des protons H-2'''''''' (3,45 ppm), H-3'''''''' (3,45 ppm) et H-5'''''''' (3,51 ppm) qui résonnent tous sous la forme de multiplets. L'analyse du spectre TOCSY et COSY (Figure III-54) permet de localiser les protons superposables H-2'''''''' et H-3'''''''' et le proton H-4'''''''' à 3,85 ppm (m) indique qu'il est en position équatoriale, de ce dernier sur les spectres TOCSY et NOESY (Figure III-54, III-57) est repéré le proton H-5'''''''' qui donne à son tour des corrélations avec les protons H-6a,b'''''''' sur le spectre COSY. Les effets nOe (Figure III-57) observés entre les protons H-1'''''''' / H-3'''''''' et H-1'''''''' / H-5'''''''' et les déplacements chimiques des carbones positionnés sur le spectre HSQC J -modulé (Figure III-55) et à l'aide du spectre HSQC-TOCSY et la comparaison avec les données de la littérature [Agrawal, 1992] cet hexose est identifié à un β -D-galactose terminal.

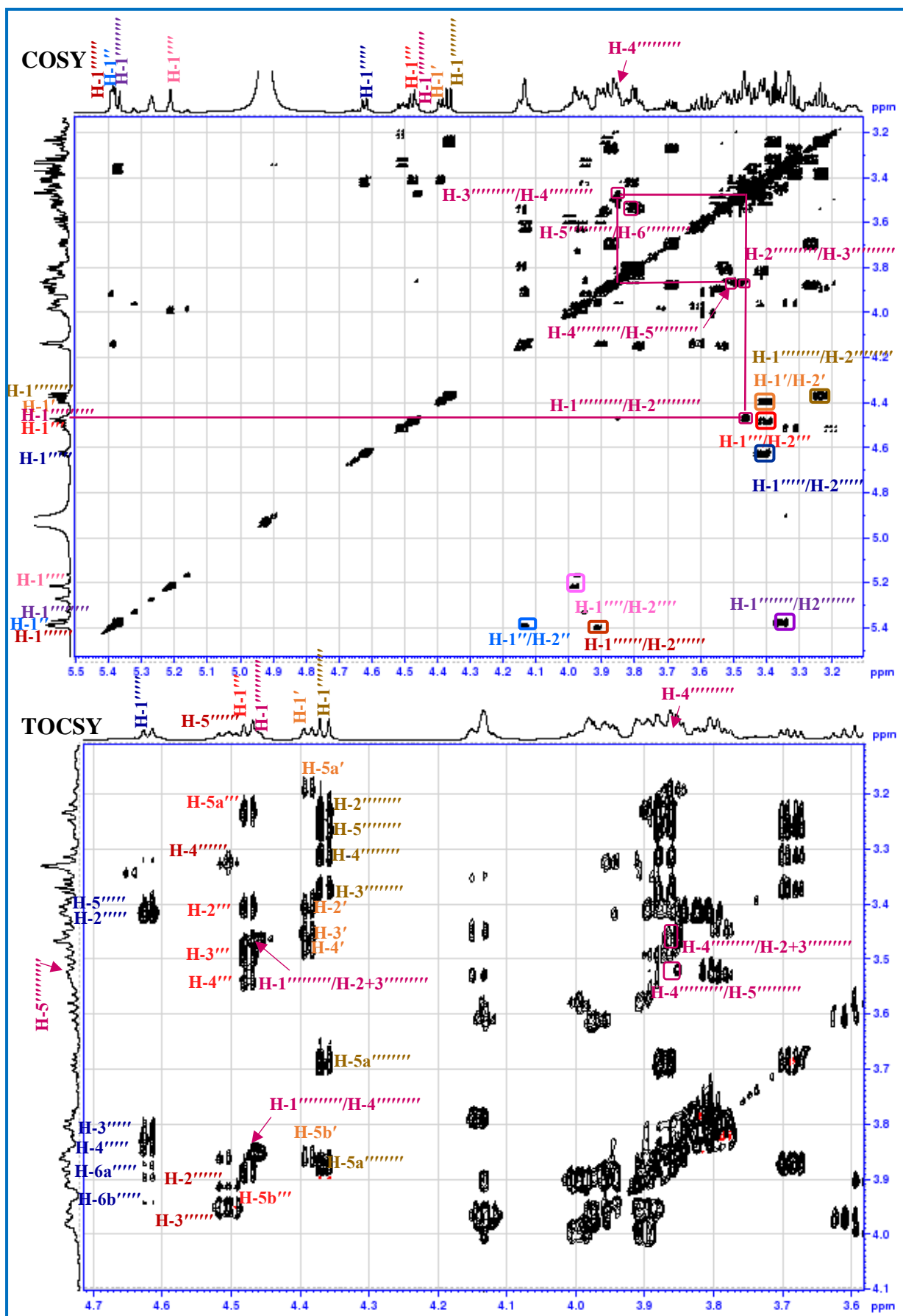
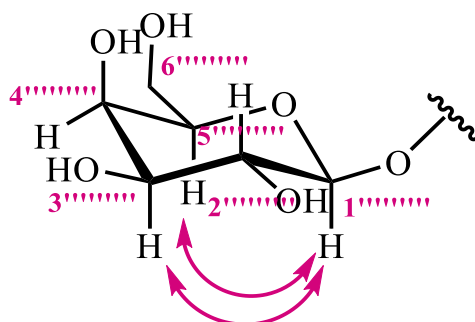


Figure III-54 : Spectre COSY et TOCSY de la zone osidique du composé Sp6.

Corrélations ROESY du β -D-galactose

Sur le spectre HSQC *J*-modulé (Figure III-54) et à l'aide du spectre TOCSY-HSQC les déplacements chimiques des carbones de tous les unités osidiques sont attribués.

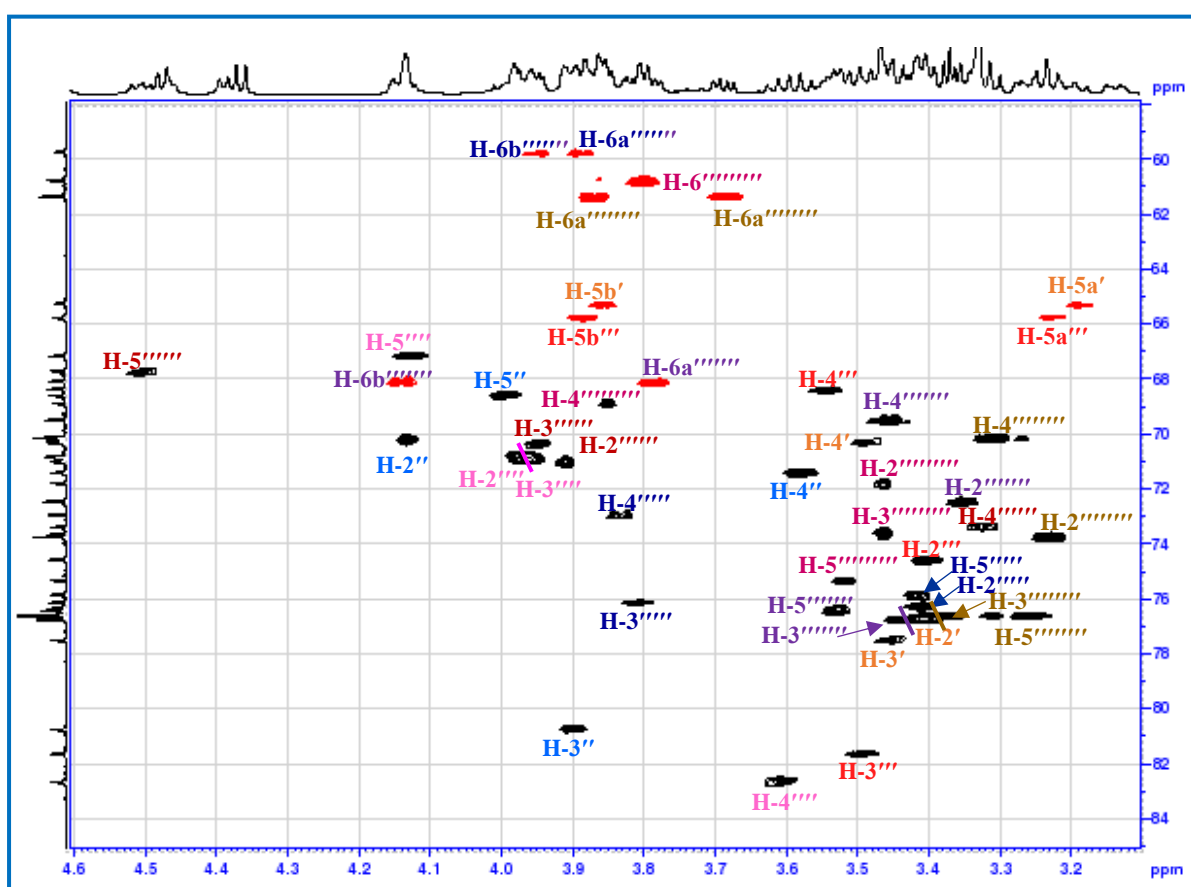


Figure III-55 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé **Sp6**.

Ce galactose est lié au Glc I par un pont (1 \rightarrow 4) *O*-glycosidique. Ce résultat est appuyé par les corrélations HMBC et NOESY, respectivement δ_H/δ_C (4,46) Gal -H-1'''''' / (δ_C 72,9) C-4'''' et δ_H/δ_H (4,46) Gal-H-1'''''''' / (3,83m, H-4''''') (Figure III-56, III-57).

En plus, des corrélations entre H-1'''' Rha III et C-3''''Glc I sur le spectre HMBC confirmant l'attachement aussi du Rha III au C-3'''' du glucose I (Glc I) et les corrélations qui

sont identiques à celles décrites pour le séquençage des chaînes osidiques de **Sp1**, l'enchaînement osidique est comme suit :

H-1'''''' Rha III terminal et C-3'''''' Glc I,

H-1''''''''Gal terminal et C-4''''''Glc I,

H-1'''''' Glc I et C-4'''''' Rha II,

H-1'''' Rha II et C-3'''' Xyl II,

H-1'''' Xyl II et C-3'' Rha I,

H-1'' Rha I et C-2' Xyl I,

H-1' Xyl I et C-3 de la génine.

H-1'''''''' Glc III et C-6'''''''' Glc II,

H-1'''''''' Glc II et C-28 de la génine.

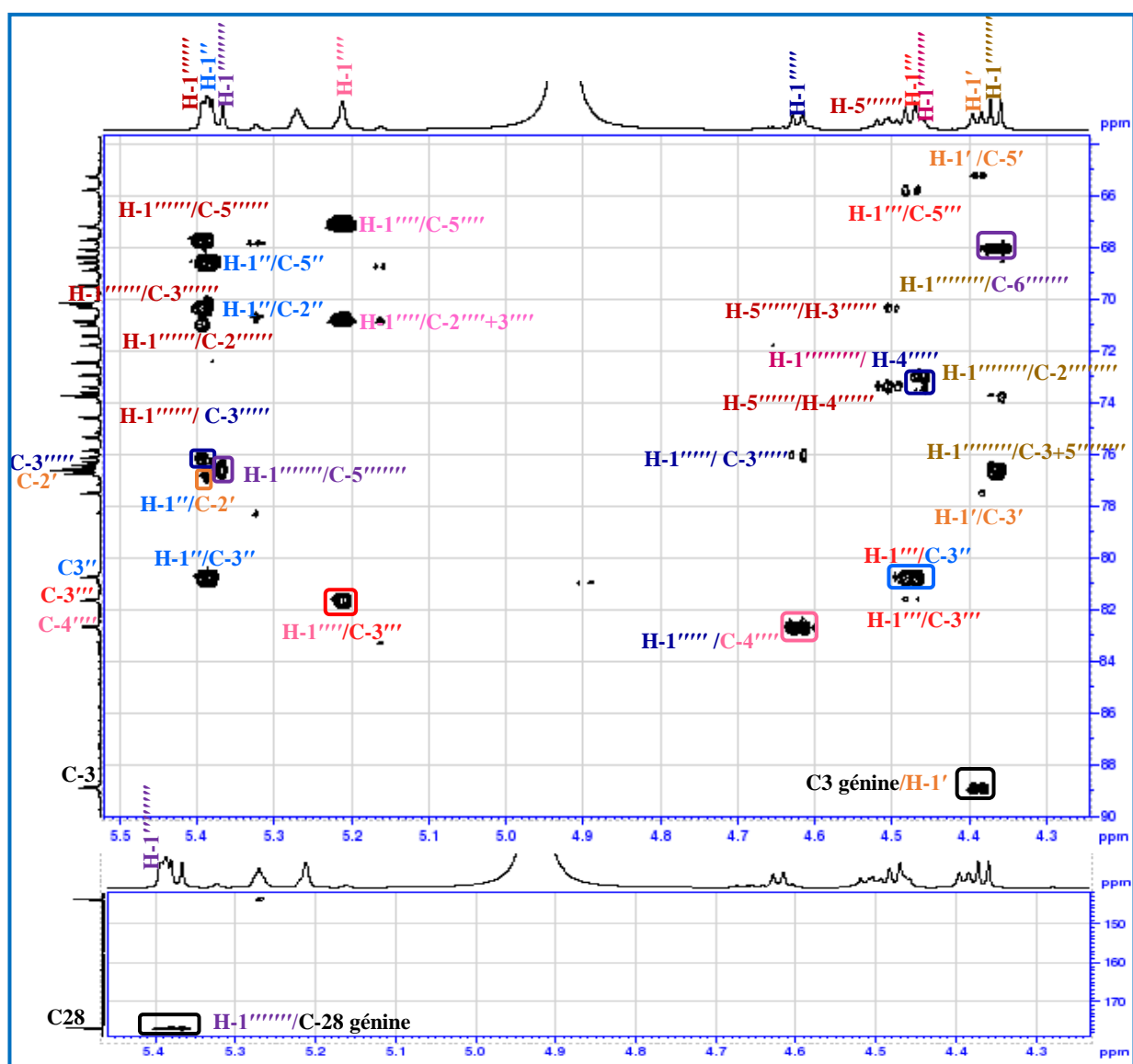


Figure III-56 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé **Sp6**.

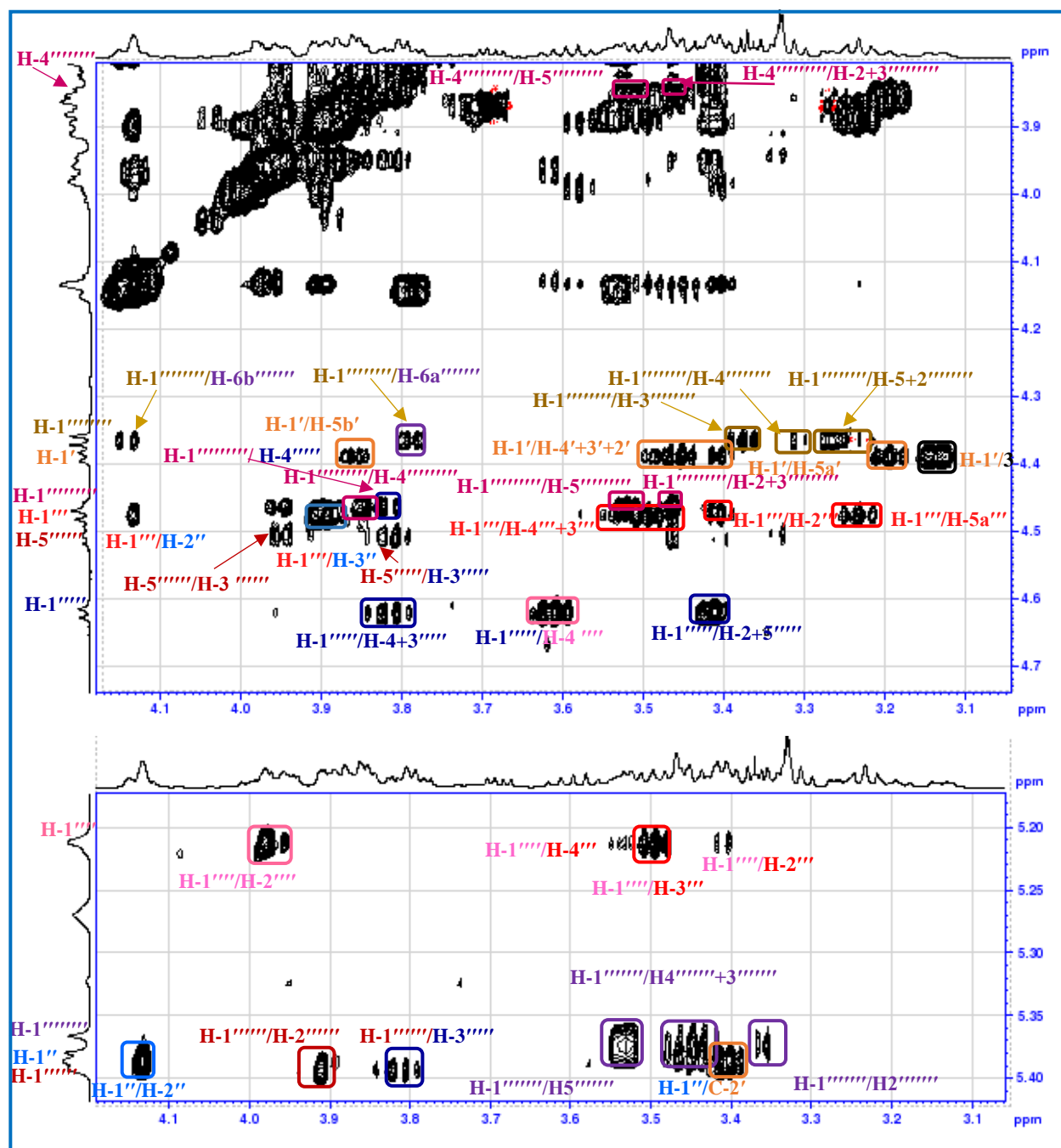
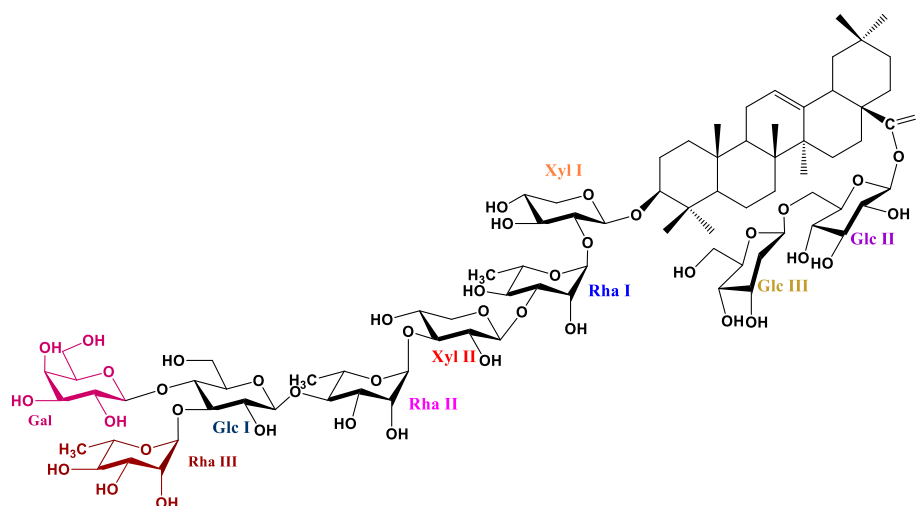


Figure III-57 : Spectre NOESY de la zone osidique du composé **Sp6**.

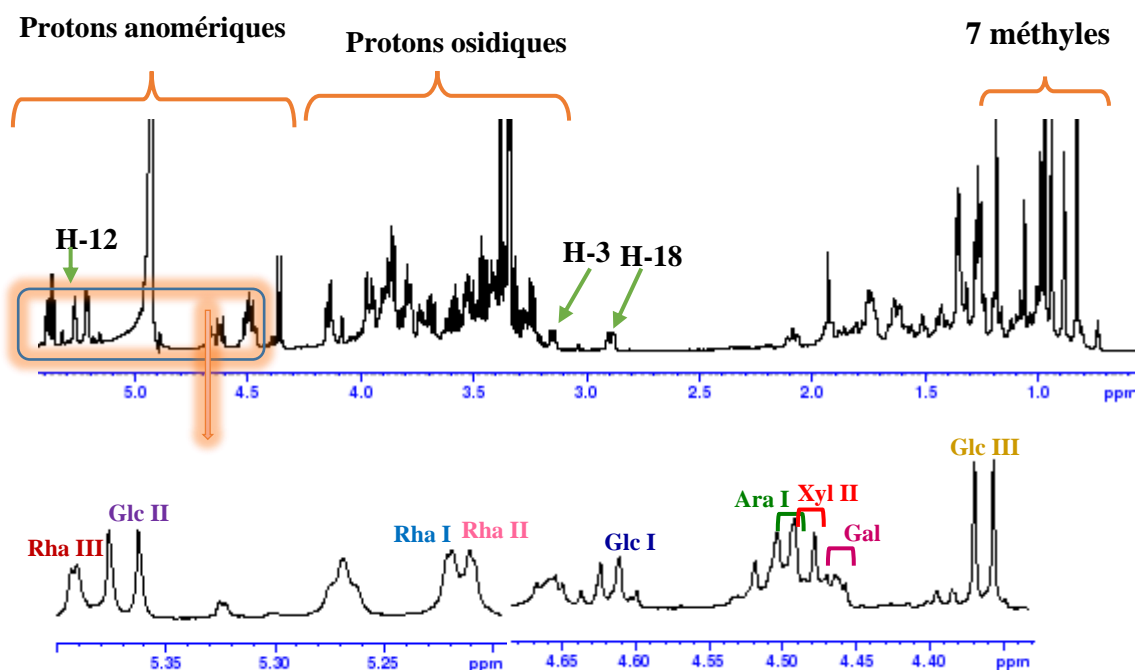
L'ensemble de ces données spectroscopiques permettent l'attribution à la nouvelle saponine bidesmosidique **Sp6** la structure suivante: 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oleanolique. **Semipapposide F** [Bendamene et al., 2020].



Sp6 : Semipapposide F

➤ Elucidation du composé **Sp7**

En plus des informations apportées par le spectre de masse indiquant l'addition d'un hexose dans ce composé par rapport au **Sp2**, l'analyse des spectres ^1H et ^{13}C (Figure III-58, III-59) par comparaison avec ceux du **Sp2** révèle la présence d'une unité osidique supplémentaire dont les anomères résonnent à δ_{H} 4,46 ppm ($d, J=7,7\text{Hz}$) et δ_{C} 102,9 ppm en plus d'un Ara, Xyl I, Rha I, Rha II, Rha III, Glc I, Glc II, Glc III identiques à ceux rencontrés dans le composé **Sp2**.

Figure III-58 : Spectres RMN ^1H du composé **Sp7**.

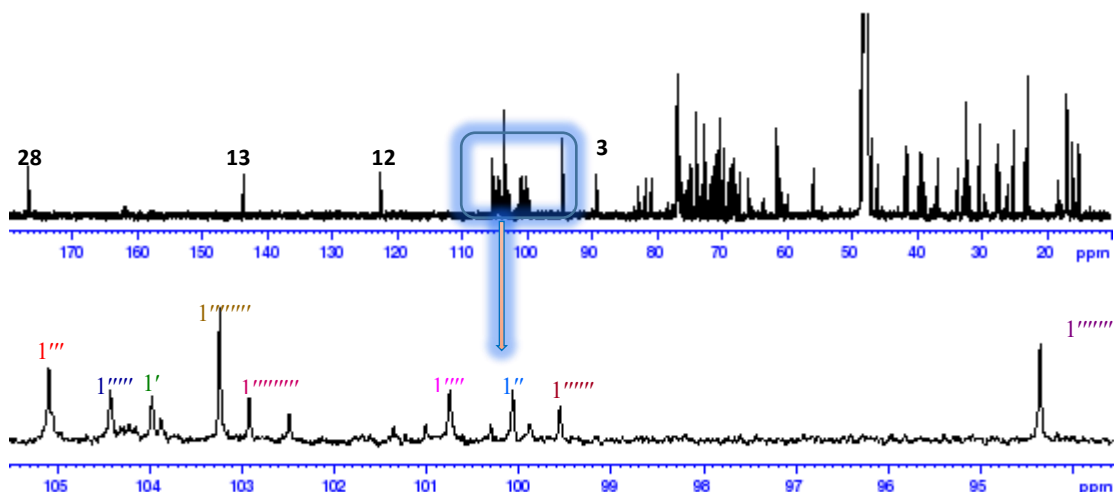


Figure III-59 : Spectres RMN ^{13}C de la zone des anomères du composé Sp7.

Les taches de corrélations observées sur le spectre HSQC *J*-modulé en face des protons anomériques permettent de localiser leurs carbones anomériques respectifs (Figure III-60).

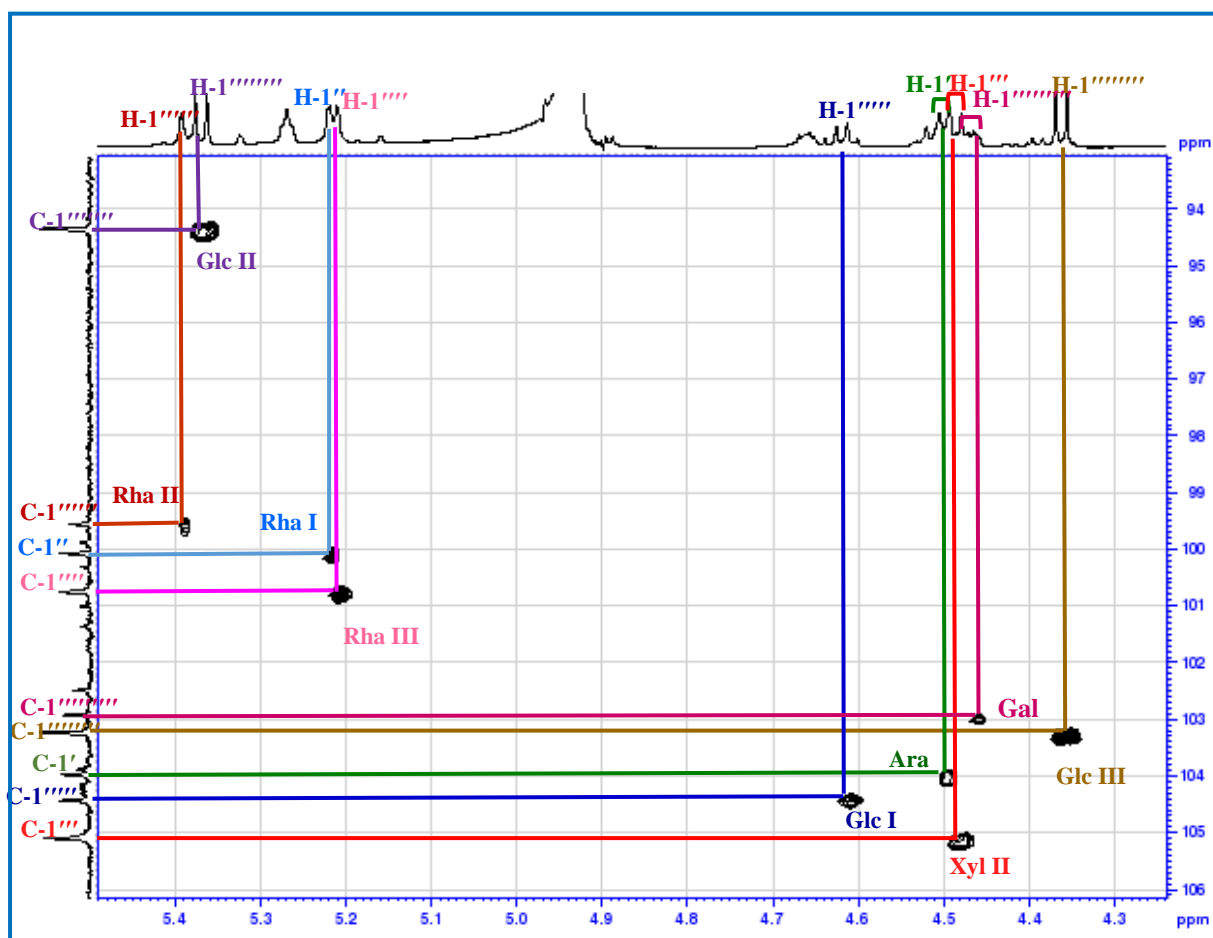


Figure III-60 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé Sp7.

L'analyse des expériences TOCSY et COSY et en se basant sur les spectres **RMN 2D** du composé **Sp2** qui serre comme une structure de base nous a permis de caractériser l'hexose supplémentaire comme un β -D-galactose. Le déplacement chimique de son proton H-4'''''''' (3.84 ppm, *m*) révèle qu'il est en position équatoriale ainsi que la présence des taches de corrélation entre H-1'''''''' / H-3'''''''' et H-1'''''''' / H-5'''''''' sur les spectres NOESY (Figure III-64) confirment la structure de cet hexose. Les déplacements chimiques des carbones (Tableau III-5) constituants ce galactose indiquent qu'il s'agit d'un β -D-galactose terminal.

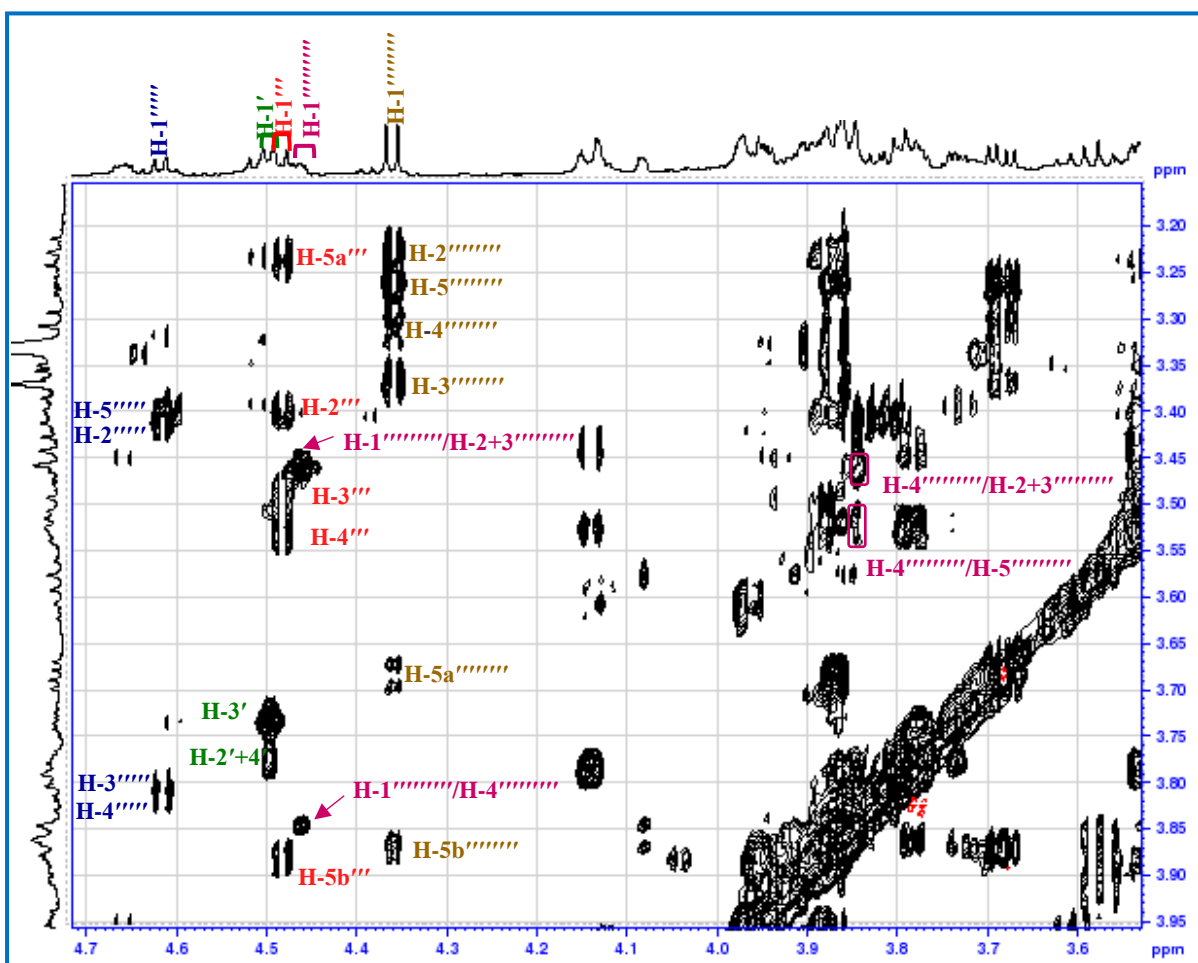


Figure III-61 : Spectre TOCSY de la zone des sucres du composé **Sp7**.

Un effet nOe (Figure III-64) repéré entre H-1'''''''' Gal et H-4'''''' Glc I et une corrélation HMBC (Figure III-63) entre H-1'''''''' Gal et C-4'''''' Glc I prouvent le point d'ancrage du β -D-galactose en C-4'''''' du Glc I.

Les attributions des carbones et des protons (Tableau III-5, Figure III-62) des sucres de la partie osidique du composé **Sp7** sont possibles après l'étude des expériences **RMN 2D** de la même manière décrite pour la détermination structurale des saponosides précédents.

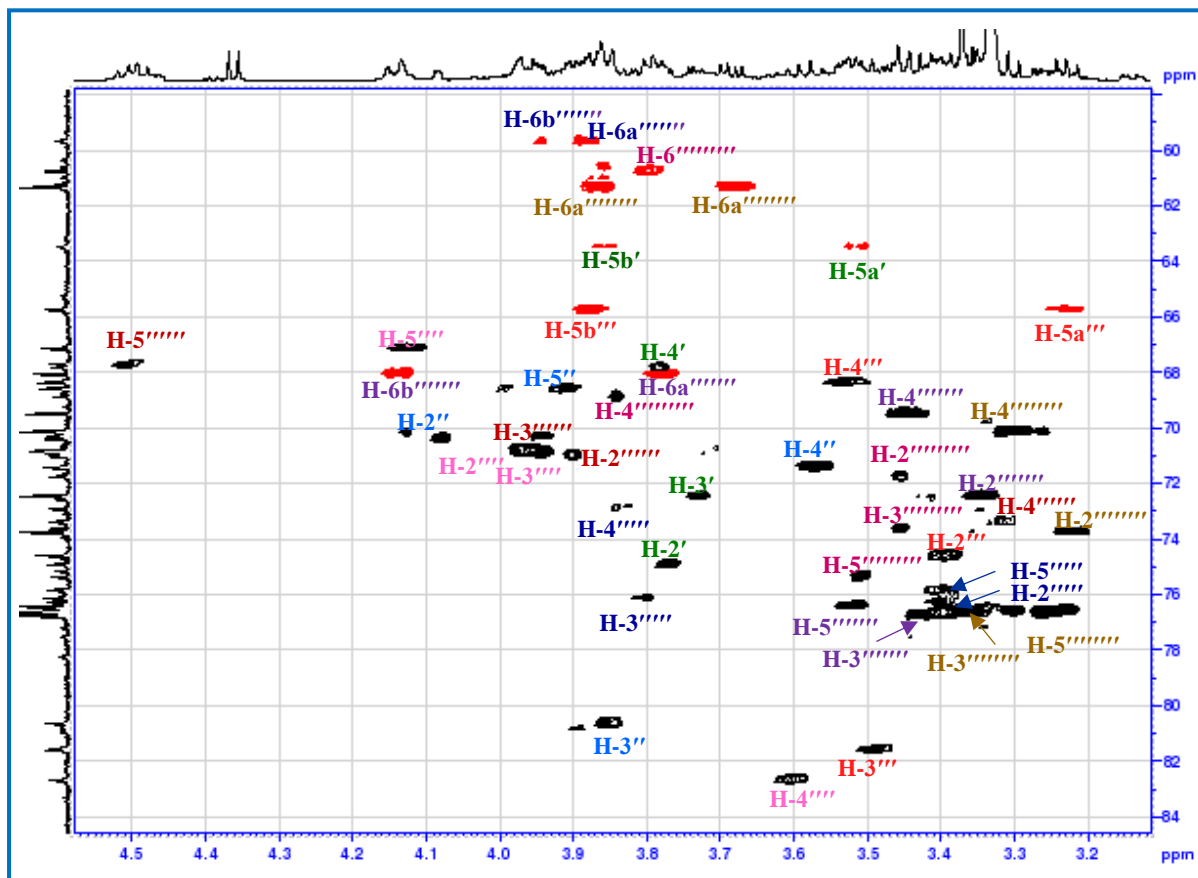


Figure III-62 : Spectre HSQC de la zone osidique du composé **Sp7**.

L'enchaînement osidique sur le composé **Sp7** déduit à partir des corrélations observées sur le spectre HMBC et confirmé par les effets nOe sur le spectre NOESY (Figure III-63,III-64) apparait identique à celui du composé **Sp6** avec le remplacement du xylose avec un arabinose qui préside le séquençage lié au **C-3** de l'acide oléanolique informe sur une isomérisation entre ces deux saponosides.

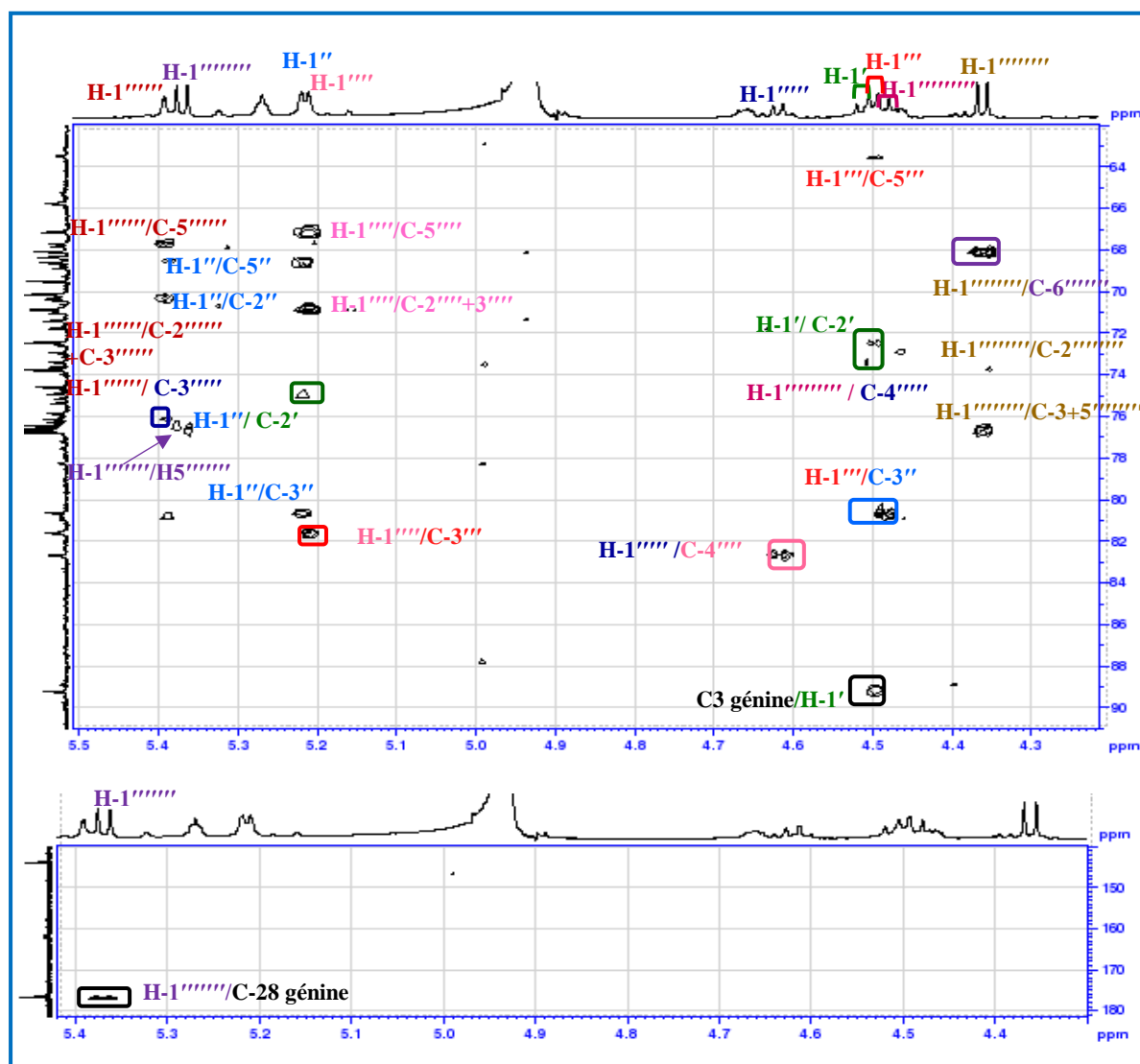


Figure III-63 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp7.

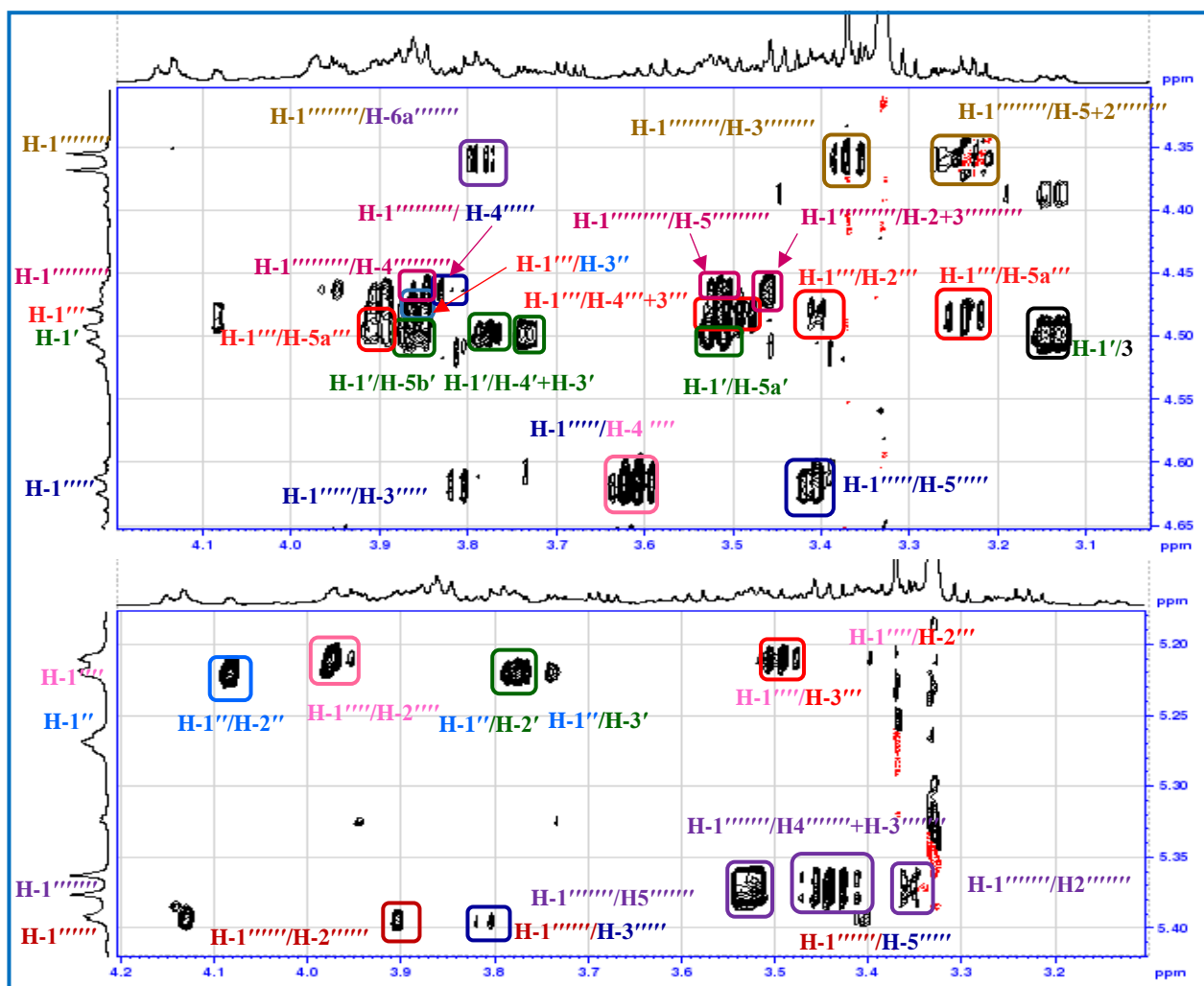


Figure III-64 : Spectre NOESY de la zone osidique du composé Sp7.

A l'issue des données déjà exposées la structure du composé **Sp 7** est élucidé à l'acide 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. Un nouveau composé nommé **Semipapposide G** [Bendamene et al., 2020].

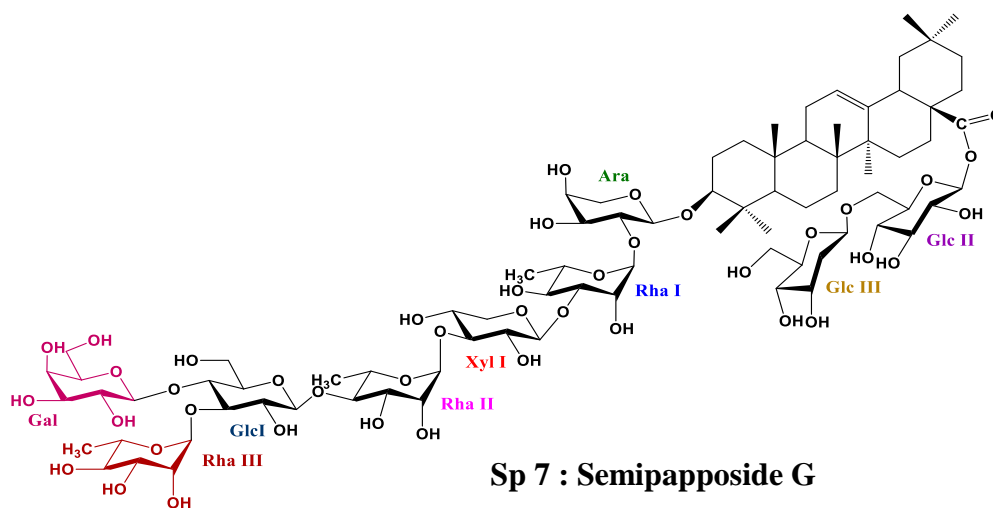


Tableau III-5: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique des composés Sp6 et Sp7 dans CD₃OD.

Partie osidique														
Composé Sp6						Composé Sp7								
Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)			
C-3			Rha III			Ara			Rha III					
1'	Xyl I 105,1	4,39, d (7,1)	1''''''	99,5	5,39, d (2,1)	1'	103,9	4,50, d (6,2)	1''''''	99,5	5,39, d (1,7)			
2'	76,7	3,41, t (7,7)	2''''''	71,0	3,91, dd (3,4, 2,1)	2'	74,9	3,78, m	2''''''	71,0	3,90, dd (3,1-1,7)			
3'	77,5	3,45, t (8,7)	3''''''	70,3	3,95, dd (9,3, 3,4)	3'	72,4	3,73, dd (7,7-3,6)	3''''''	70,3	3,94, dd (9,2-3,1)			
4'	70,2	3,48, m	4''''''	73,3	3,32, m	4'	67,8	3,79, m	4''''''	73,4	3,33, m			
5'	65,2	3,18, dd (11,4-9,9)	5''''''	67,7	4,50, m	5'	63,4	3,52, dd (10,8-4,7)	5''''''	67,7	4,46, m			
		3,85, m	6''''''	16,6	1,26, d (6,3)			3,85, d (10,8)	6''''''	16,5	1,26, d (6,2)			
Rha I			Gal			Rha I			Gal					
1''	99,9	5,38, d (1,7)	1''''''''	102,9	4,46, d (7,6)	1''	100,1	5,22, d (1,6)	1''''''''	102,9	4,46, d (7,7)			
2''	70,2	4,13, dd (3,2-1,7)	2''''''''	71,8	3,45, m	2''	70,4	4,08, dd (2,9-1,6)	2''''''''	71,7	3,45, m			
3''	80,7	3,90, dd (9,4-3,2)	3''''''''	73,6	3,45, m	3''	80,6	3,85, dd (9,6-2,9)	3''''''''	73,6	3,46, m			
4''	71,4	3,58, t (9,6)	4''''''''	68,8	3,85, m	4''	71,4	3,57, t (9,6)	4''''''''	68,8	3,84, m			
5''	68,6	3,99, m	5''''''''	75,3	3,51, m	5''	68,6	3,91, m	5''''''''	75,3	3,51, m			
6''	16,7	1,25, d (6,2)	6''''''''	60,7	3,79, m	6''	16,7	1,25, d (6,2)	6''''''''	60,7	3,80, m			
					3,81, m	Xyl I			C-28					
1'''	105,1	4,47, d (7,7)	C-28	Glc II	1''''''	94,3	5,37, d (8,2)	1'''	105,1	4,48, d (7,9)	C-28	Glc II		
2'''	74,5	3,40, dd (8,7-7,7)	1''''''	94,3	5,37, d (8,2)	2''''''	72,4	3,35, m	2'''	74,6	3,40, m	1''''''	94,3	5,37, d (8,2)
3'''	81,6	3,49, t (8,7)	2''''''	72,4	3,35, m	3''''''	76,7	3,43, t (8,6)	3'''	81,6	3,48, t (8,9)	2''''''	72,4	3,35, m
4'''	68,3	3,53, m	3''''''	76,7	3,43, t (8,6)	4''''''	69,5	3,45, t (8,6)	4'''	68,3	3,53, m	3''''''	76,7	3,43, t (9,0)
5'''	65,7	3,22, dd (11,1-9,2)	4''''''	69,5	3,45, t (8,6)	5''''''	76,4	3,52, m	5'''	65,7	3,23, t (10,6)	4''''''	69,5	3,46, t (9,0)
		3,87, m	5''''''	76,4	3,52, m	6''''''	68,0	3,77, dd (11,2-4,5)	5''''''	76,4	3,53, m	5''''''	76,4	3,53, m
Rha II			Glc III			Rha II			Glc III					
1''''	100,7	5,21, brs	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)	1''''	100,7	5,21, brs	1''''''	103,2	4,36, d (7,8)			
2''''	70,8	3,97, m	2''''''''	73,7	3,23, t (7,8)	2''''	70,8	3,97, dd (2,8, 1,2)	2''''''	73,7	3,23, dd (9,2-7,8)			
3''''	70,8	3,95, dd (9,4, 3,3)	3''''''''	76,6	3,35, m	3''''	70,9	3,95, dd (9,3, 2,8)	3''''''	76,6	3,37, m			
4''''	82,6	3,61, t (9,4)	4''''''''	70,1	3,31, t (8,7)	4''''	82,6	3,61, t (9,3)	4''''''	70,1	3,31, t (8,7)			
5''''	67,1	4,13, m	5''''''''	76,5	3,25, m	5''''	67,1	4,13, m	5''''''	76,6	3,26, m			
6''''	16,7	1,34, d (6,1)	6''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,6)	6''''	16,6	1,34, d (6,2)	6''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,4)			
Glc I			Glc I			Glc I			Glc I					
1''''''	104,4	4,62, d (7,8)	1''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,6)	1''''''	104,4	4,62, d (7,9)	1''''''	104,4	4,62, d (7,9)			
2''''''	76,3	3,41, m			3,86, dm (12,0)	2''''''	76,3	3,40, m	2''''''	76,3	3,40, m			
3''''''	76,1	3,80, t (9,2)				3''''''	76,1	3,80, t (9,2)	3''''''	76,1	3,80, t (9,2)			
4''''''	72,9	3,83, m				4''''''	72,9	3,83, t (9,3)	4''''''	72,9	3,83, t (9,3)			
5''''''	75,8	3,41, m				5''''''	75,8	3,40, m	5''''''	75,8	3,40, m			
6''''''	59,7	3,87, m				6''''''	59,6	3,87, dd (12,2, 2,9)	6''''''	59,6	3,87, dd (12,2, 2,9)			
		3,95, dd (12,9-2,2)						3,95, m						

III.1.1.6 Détermination structurale du composé Sp8

Le spectre de masse HR-ESI-MS en mode positif du composé **Sp8** (Figure III-64) donne un ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 1837,8485 calculé 1837,8483 indique une formule brute $C_{83}H_{137}O_{44}$, la présence de 30 *uma* de plus que le saponoside **Sp7** suggère un remplacement d'un pentose par une unité d'hexose.

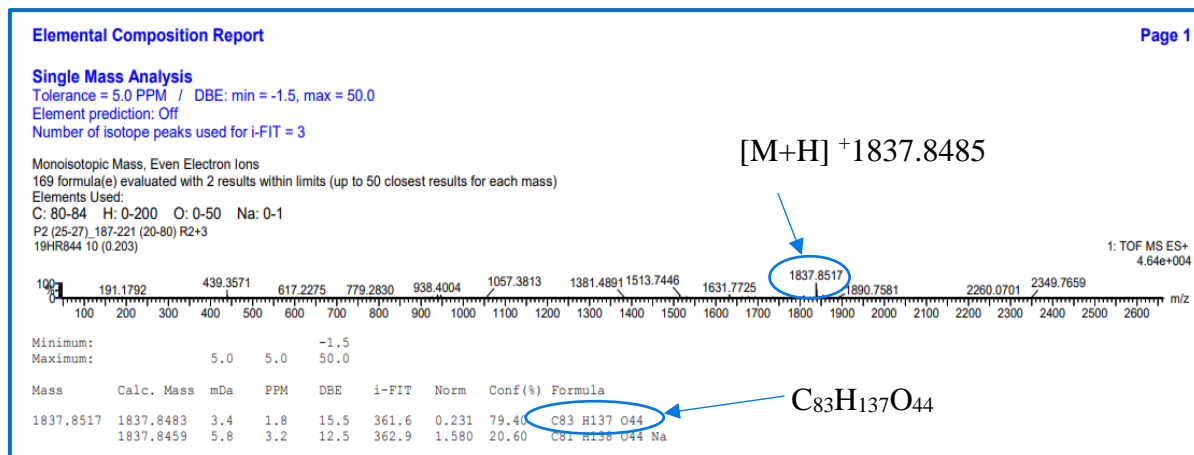


Figure III-65 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Sp8.

L'identification structurale de ce composé est établie par comparaison de ses spectres RMN avec ceux du composé **Sp7** qui a conduit à repérer sur les spectres RMN 1H et ^{13}C (Figures III-66, III-67) un doublet résonant à δ_H 4,51 ppm et son carbone anomérique correspondant à δ_C 104,3 ppm remplacent le signal de celui du **Xylose I** (δ_H 4,48 ppm, δ_C 105,1) du composé **Sp7**.

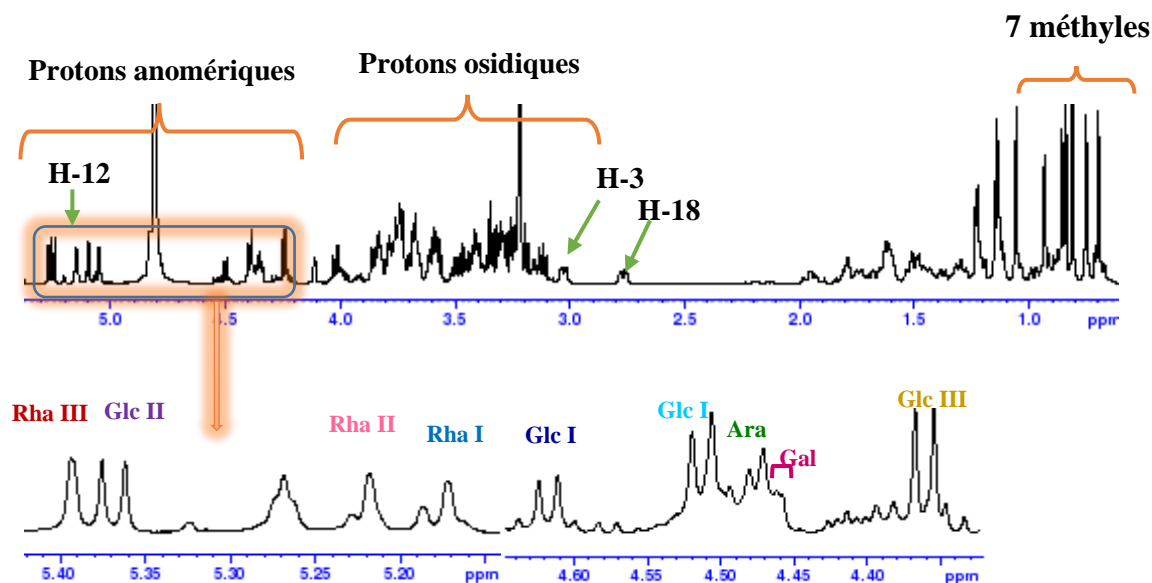


Figure III-66 : Spectres RMN 1H du composé Sp8.

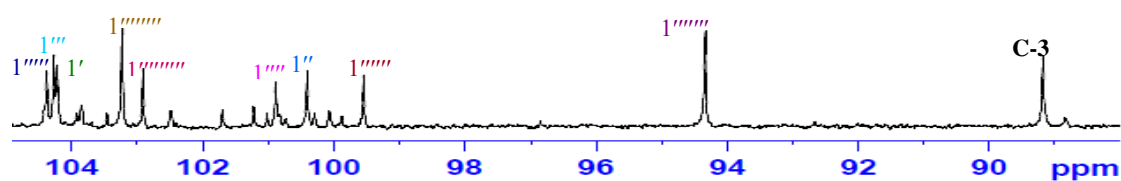


Figure III-67 : Spectres RMN ^{13}C de la zone des anomères du composé **Sp8**.

Sur le spectre HSQC modulé sont attribués les carbones anomériques de tous les unités osidiques à partir de leurs protons anomériques (Figure III-68). L'analyse conjointe des spectres RMN 2D partant de ces protons indique la présence de huit unités osidiques semblables à ceux élucidés pour le composé **sp7** (Tableau III-6):

- Un α -L Arabinose (Ara, $\delta_{\text{H-1}'}$ 4,47 ppm).
- Trois α -L Rhamnose (Rha I, $\delta_{\text{H-1}''}$ 5,17 ppm, Rha II, $\delta_{\text{H-1}''''}$ 5,22 ppm, Rha III, $\delta_{\text{H-1}''''''}$ 5,39 ppm).
- Trois β -D Glucose (Glc II, $\delta_{\text{H-1}''''}$ 4,62 ppm, Glc III $\delta_{\text{H-1}''''''}$ 5,36 ppm, Glc IV $\delta_{\text{H-1}''''''''}$ 4,36 ppm).
- Un β -D Galactose (Gal $\delta_{\text{H-1}''''''''''}$ 4,46 ppm).

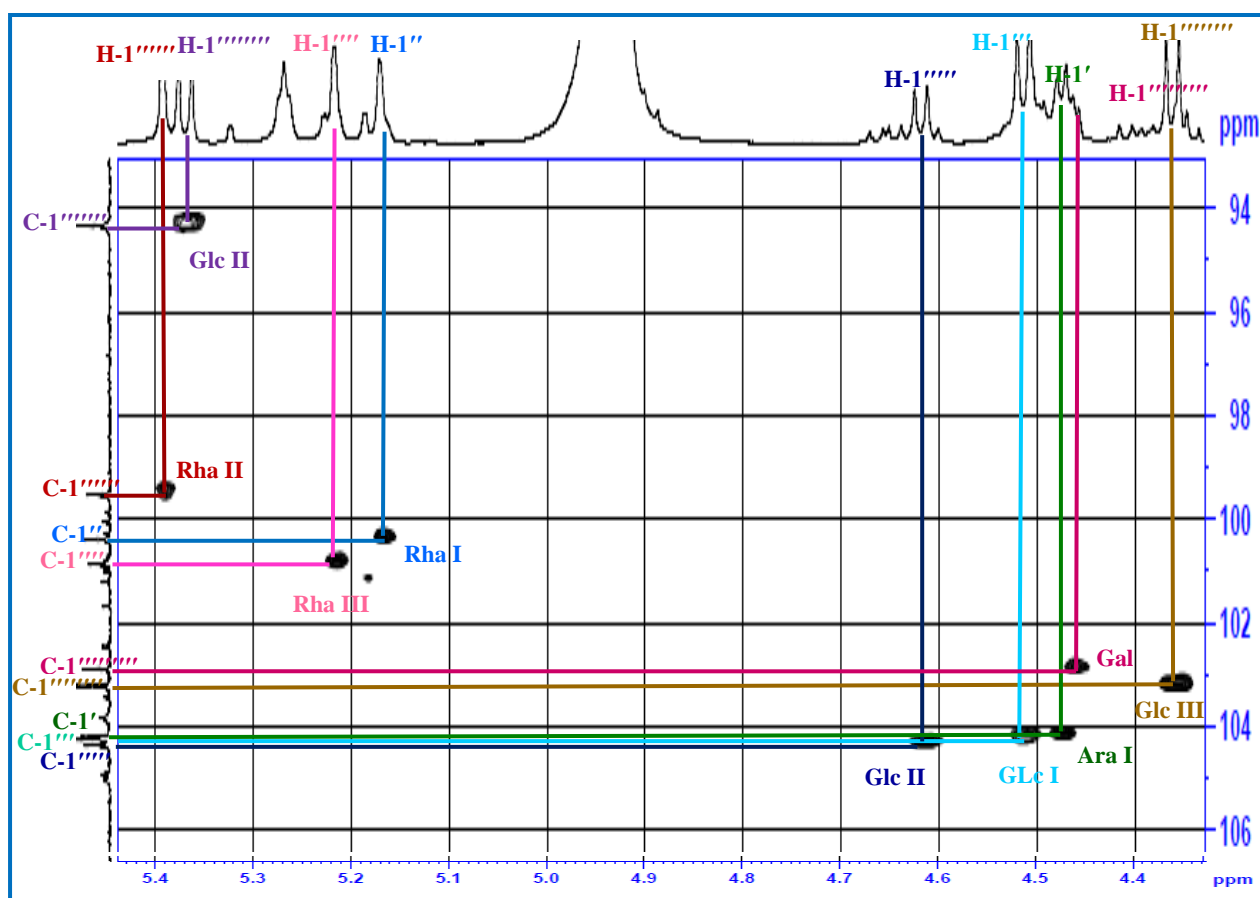


Figure III-68 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp8**.

A partir du nouveau proton anomérique H-1''' (4,51 ppm, *d*, $J=7,7\text{Hz}$) l'analyse des spectres TOCSY et COSY (Figure III-69) montre qu'il fait partie d'un système de spin à sept protons couplés appartenant à un hexose résonnant à H-2''' (3,42 ppm, *m*), H-3''' (3,55 ppm, *t*, $J=9\text{ Hz}$), H-4''' (3,39 ppm, *m*) H-5''' (3,33 ppm, *m*) et les deux protons H-6a''' (3,72 ppm, *dd*, $J=11,6-4,4$) et H-6b''' (3,86 ppm, *m*). Les grandes valeurs des constantes de couplage mesurées et les déplacements chimiques de ces carbones (Tableau III-6) accordés sur le spectre HSQC *J*-modulé (Figure III-70) sont caractéristiques d'un β -D-glucose, le déblindage de son carbone C-3''' permet de supposer une substitution en cette position.

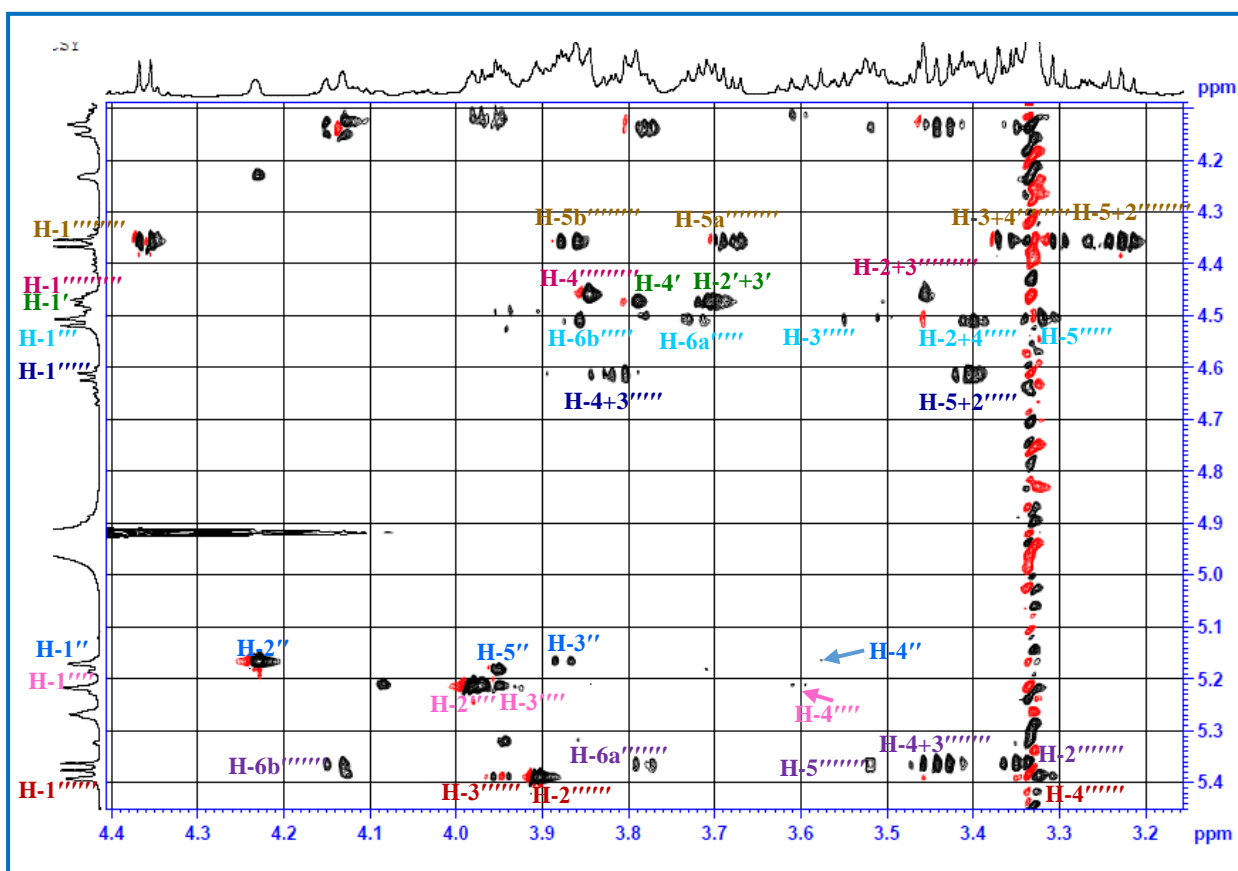


Figure III-69 :Spectre TOCSY de la zone osidique du composé Sp8.

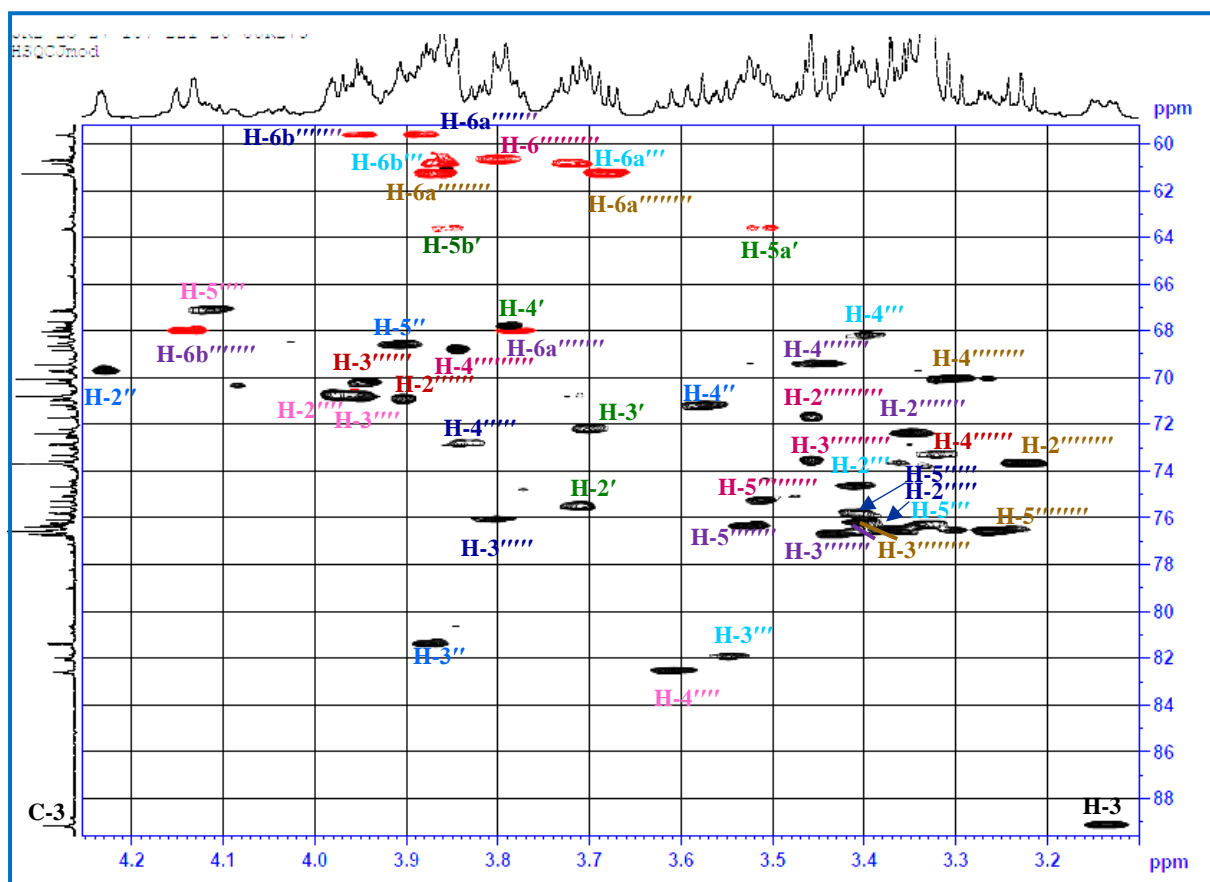


Figure III-70: Spectre HSQC de la zone osidique du composé **Sp8**.

Ce glucose est positionné entre le **Rha I** et **Rha II** d'après les corrélations ci-dessous observées sur le spectre HMBC (Figure III-71) entre **C-3''** Rha I / **H-1'''** Glc I et entre **C-3'''** Glc I / **H-1''''** Rha II :

H-1'''''' Rha III terminal et **C-3''''''** Glc II,

H-1'''''''' Gal terminal et **C-4''''''** Glc II,

H-1'''''' Glc II et **C-4''''** Rha II,

H-1'''' Rha II et **C-3''''** Glc I,

H-1'''' Glc I et **C-3''** Rha I,

H-1'' Rha I et **C-2'** Ara,

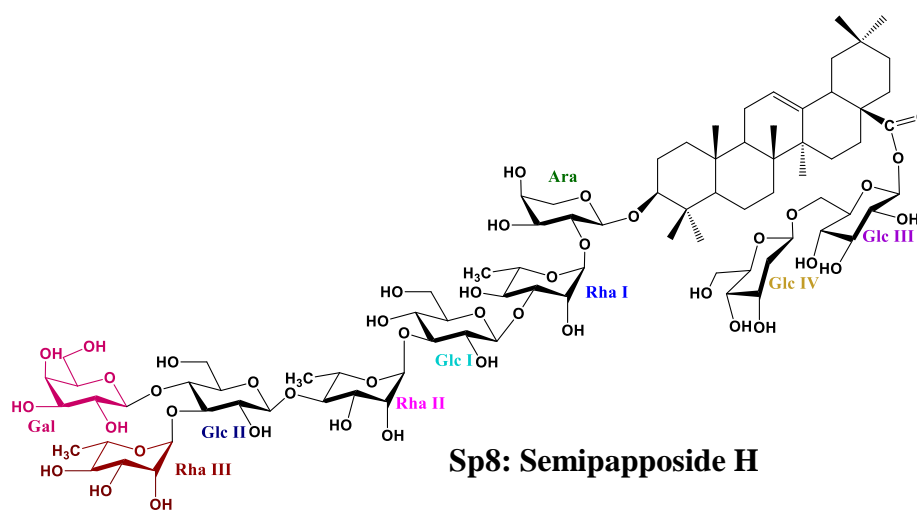
H-1' Ara et **C-3** de la génine.

H-1'''''''' Glc IV et **C-6''''''''** Glc III,

H-1'''''''' Glc III et **C-28** de la génine.

Confirmé par les effets rOe repérés sur le spectre ROESY (Figure III-71) entre **H-3''** Rha I / **H-1''''** Glc I et entre **H-3''''** Glc I / **H-1''''''** Rha II.

A ce stade l'ensemble des données spectrales permet d'élucider le composé **Sp8** comme étant : l'acide 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. **Semipapposide H** reconnu comme une structure nouvelle [Bendamene et al., 2020].



III.1.1.7 Détermination structurale du mélange Sp13 (en mélange)

Les deux composés **Sp13** et **Sp4** ont été obtenus comme un mélange inséparable 40 :60 basé sur l'intensité d'intégrale des signaux correspondant sur les spectres ^1H et HRMS. Malheureusement tous efforts employer utilisant plusieurs méthode chromatographiques sur phase normale ou inverse n'a pas abouti a séparé ce mélange. Donc l'élucidation structurale des deux composés a été établie à partir des spectres **RMN 1D** et **2D** du mélange. Ce sont des bidesmosides de l'acide oléanolique.

D'après l'analyse détaillée de spectre de masse HR-ESI-MS et des spectres RMN **1D** et **2D**, le **semipapposide Sp4** est identifié comme le composé majoritaire dans ce mélange.

Le spectre de masse HR-ESI-MS en mode positif (**Figure III-72**) du mélange montre deux ions pseudo-moléculaires. Le premier ion pseudo-moléculaire $[\text{M}+\text{Na}]^+$ à m/z 1653,7538, correspond au **semipapposide Sp4**. Le deuxième ion pseudo-moléculaire $[\text{M}+\text{Na}]^+$ à m/z 1859,8329 correspond au **semipapposide Sp13** en accord avec une formule brut $\text{C}_{83}\text{H}_{137}\text{O}_{44}$. Par comparaison avec celui du saponoside **Sp3** (m/z 1675,7977) indique qu'il possède un hexose supplémentaire soit (+162 *uma*).

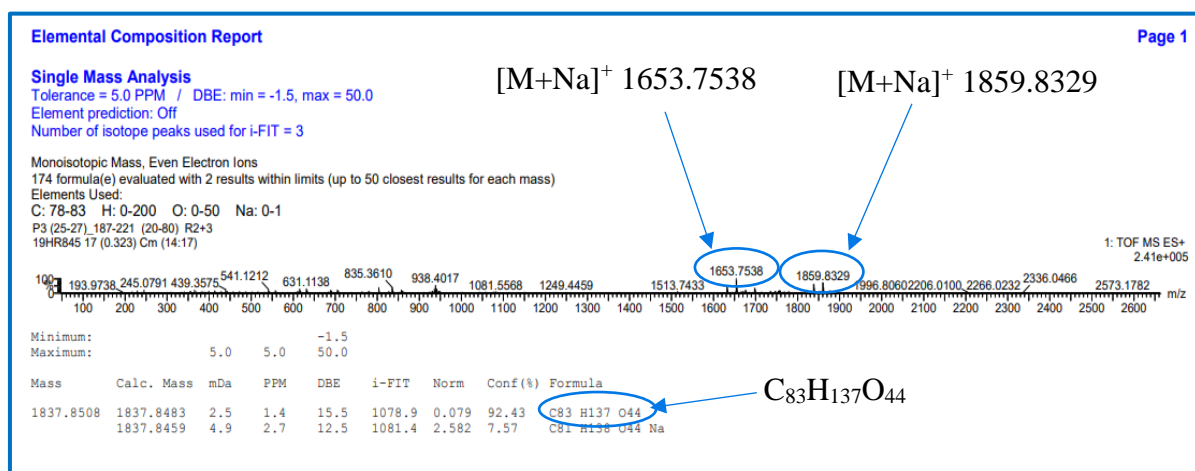


Figure III-72 : Spectre de masse HR ESIMS du composé **Sp13** (en mélange).

En partant des protons anomériques (**Figure III-73**) résonnants à $\delta_{\text{H}} 4.38\text{ppm}$ (d , $J=7,1\text{Hz}$), 4.49 (d , $J=7,6\text{Hz}$), 4.35 (d , $J=7,8$), 5.39 ppm brs, 5.18 ppm (d , $J=1,5\text{Hz}$), 4.41 ppm (d , $J=7,8\text{Hz}$), 5.37 ppm (d , $J=8,2\text{Hz}$) et 4.36 ppm (d , $J=7,8\text{Hz}$) l'analyse conjointe des spectres RMN 2D (**Figure III-74**) nous a conduit à caractérisé les huit sucres constitutifs du composé **Sp4** comme il a été décrit précédemment (**Tableau III-4,Sp4**).

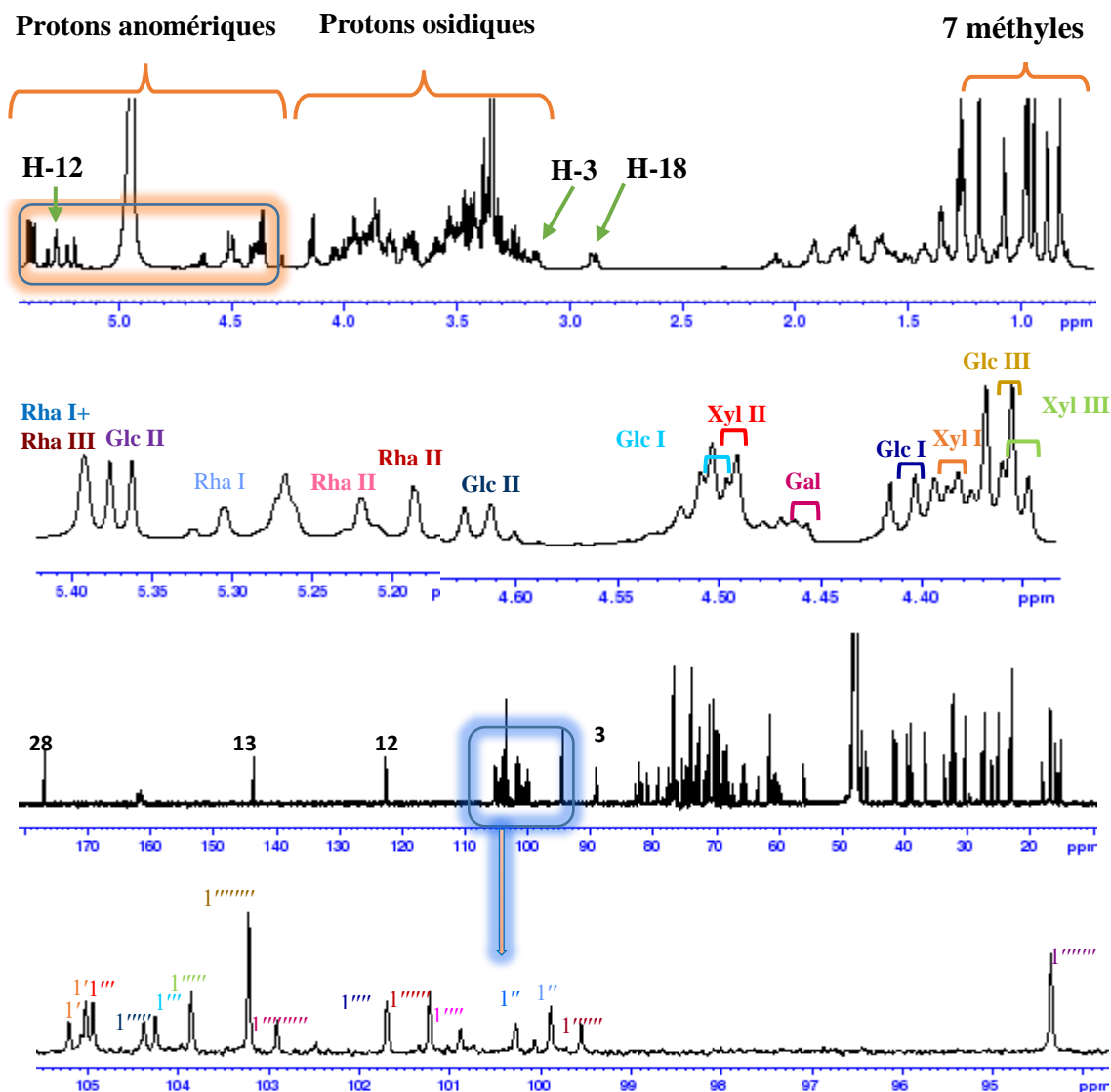


Figure III-73 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé **sp13** (en mélange).

➤ Elucidation du composé **Sp13**

L'examen du spectre de RMN ^1H (Figure III-73) de **Sp13** révèle la présence de neuf protons anomériques à δ_{H} 4,39 ppm ($d, J=7,1\text{Hz}$), 5,30 ppm ($d, J=1,3\text{ Hz}$), 5,22 ppm ($d, J=1,2\text{Hz}$), 5,40 ppm brs, 4,51 ppm ($d, J=7,7\text{ Hz}$), 4,62 ppm ($d, J=7,8\text{ Hz}$), 5,36 ppm ($d, J=8,2\text{ Hz}$), 4,36 ppm ($d, J=7,8\text{Hz}$) et 4,46 ppm ($d, J=7,6\text{ Hz}$) qui corrélient sur le spectre HSQC (Figure III-74) avec neuf carbones anomériques à δ_{C} 105,2, 100,3, 100,9, 99,5, 104,2, 104,4, 94,3, 103,2 et 102,9 ppm, dont huit oses sont communs avec le saponoside **Sp3** (Tableau III-6).

L'analyse des spectres COSY, conjointement avec les spectres TOCSY, HSQC et HMBC de **Sp13** permet de caractériser les huit sucres communs :

- Un β -D-xylose (Xyl I, δ_{H-1} 4,39 ppm).
- Trois α -L-Rhamnose (Rha I, δ_{H-1} 5,30 ppm), (Rha II, δ_{H-1} 5,22 ppm), (Rha III, δ_{H-1} 5,40 ppm).
- Quatre β -D-glucose : (Glc I, δ_{H-1} 4,51 ppm), (Glc II, δ_{H-1} 4,62 ppm) et les deux glucose ester (Glc III, δ_{H-1} 5,36 ppm), (Glc IV, δ_{H-1} 4,36 ppm).

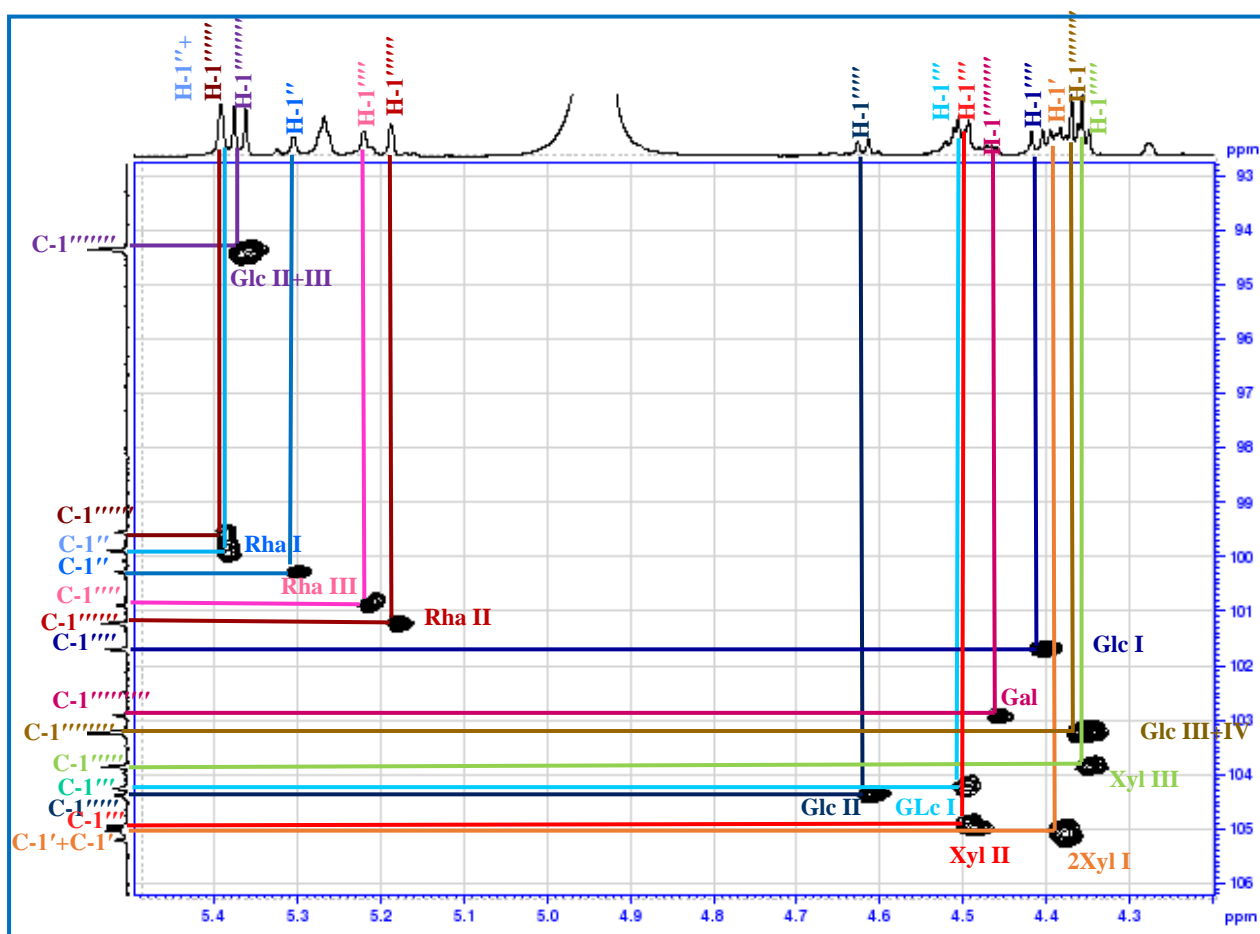


Figure III-74 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **Sp13** (en mélange).

L'hexose supplémentaire est identifié sur les spectres COSY, TOCSY et ROESY à partir de son anomère situé à $\delta_{H}4,46$ ppm (d , $J=7,6$ Hz) et $\delta_{C}102,9$ ppm comme étant un β -D-galactose terminale de la même manière élucidé précédemment. Les déplacements chimiques des carbones (Figure III-75, Tableau III-6) constituants cet hexose ainsi que les autres unités osidiques sont assignés sur le spectre HSQC J -modulé.

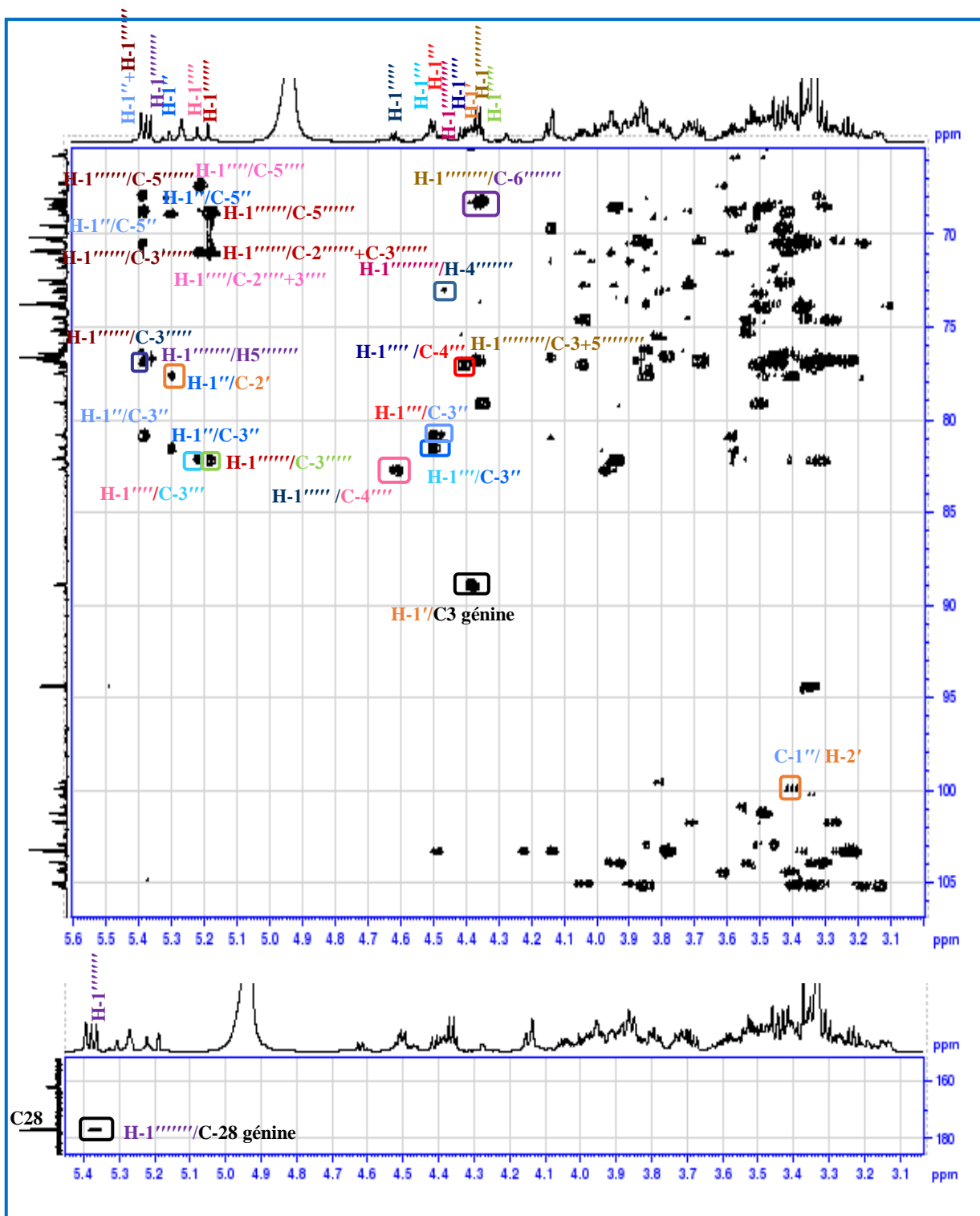


Figure III-76 : Spectre HMBC de la zone osidique du composé Sp13 (en mélange).

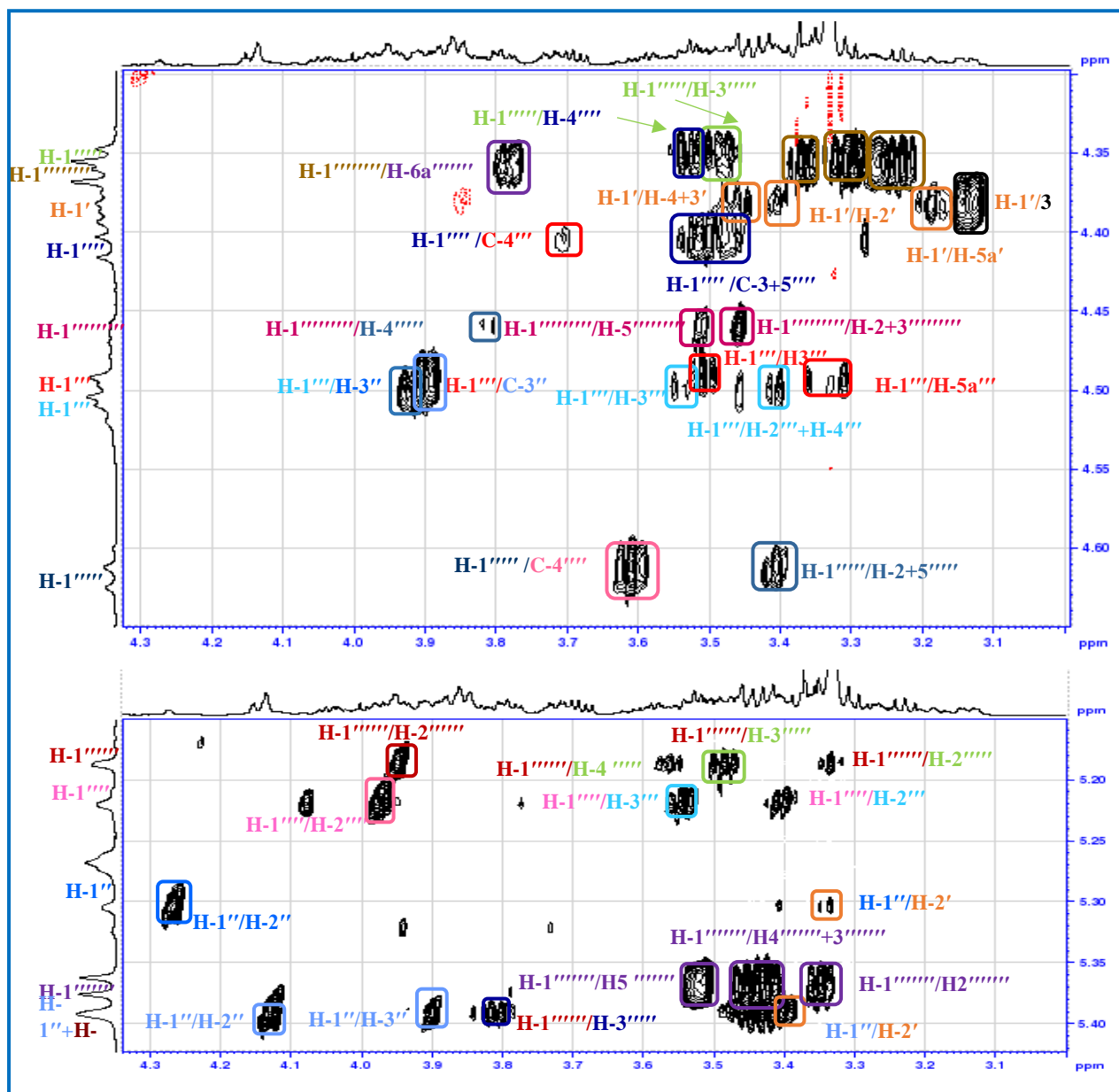


Figure III-77 : Spectre ROESY de la zone osidique du composé **Sp13** (en mélange).

Au vu de tout ce qui précède, on conclut que la structure de composé **Sp13** est : l'acide 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. Une nouvelle structure dénommée **Semipapposide M** [Bendamene et al., 2020].

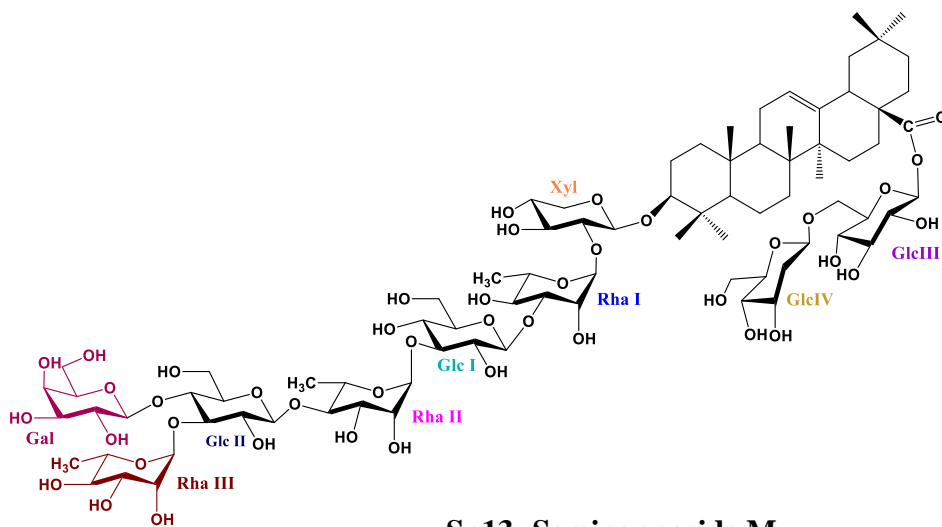


Tableau III-6 : Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique des composés Sp08 et Sp13 dans CD₃OD.

Partie osidique											
Composé Sp8						Composé Sp13					
Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)
C-3			Rha III			C-3			Rha III		
1'	Ara 104,2	4,47, d (6,0)	1''''''	101,3	5,15, d (1,4)	1'	Xyl I 105,2	4,39, d (7,1)	1''''''	99,5	5,40, brs
2'	75,5	3,71, m	2''''''	70,9	3,97, dd (3,5-1,4)	2'	77,0	3,41, m	2''''''	71,1	3,91, dd (3,2-1,3)
3'	72,2	3,72, dd (6,3-4,6)	3''''''	70,8	3,72, dd (9,5-3,5)	3'	77,5	3,45, m	3''''''	70,3	3,95, dd (9,3, 3,2)
4'	67,9	3,79, m	4''''''	72,5	3,42, t (9,5)	4'	70,3	3,48, m	4''''''	73,9	3,33, m
5'	63,7	3,52, dd (12,0-1,3)	5''''''	68,7	4,00, m	5'	65,2	3,19, t (10,7)	5''''''	67,6	4,50, m
		3,85, m	6''''''	16,5	1,27, d (6,2)			3,84, m	6''''''	16,5	1,27, d (6,2)
Rha I			Gal			Rha I			Gal		
1''	100,4	5,17, d (1,3)	1''''''''	102,9	4,46, d (8,2)	1''	100,3	5,30, d (1,3)	1''''''''	102,9	4,46 d (7,6)
2''	69,8	4,23, dd (3,2-1,3)	2''''''''	71,7	3,46, m	2''	69,5	4,27, dd (2,4-1,3)	2''''''''	71,7	3,46, m
3''	81,4	3,88, dd (9,5-3,2)	3''''''''	73,6	3,46, m	3''	81,5	3,93, dd (9,6-2,4)	3''''''''	73,6	3,45, m
4''	71,2	3,58, t (9,5)	4''''''''	68,9	3,85, d (2,3)	4''	71,2	3,58, t (9,6)	4''''''''	68,8	3,84, m
5''	68,7	3,91, m	5''''''''	75,3	3,52, m	5''	68,5	4,01, m	5''''''''	75,3	3,51, m
6''	16,5	1,25, d (6,2)	6''''''''	60,7	3,80, m	6''	16,7	1,25, d (6,2)	6''''''''	60,7	3,80, m
Glc I			C-28			Glc I			C-28		
1'''	104,3	4,51, d (7,7)	1''''''''	94,3	5,37, d (8,2)	1'''	104,2	4,51, d (7,7)	1''''''''	94,3	5,36, d (8,2)
2'''	74,7	3,42, m	2''''''''	72,4	3,35, t (8,5)	2'''	74,7	3,40, dd (9,0-7,7)	2''''''''	72,4	3,35, m
3'''	82,0	3,55, t (9,0)	3''''''''	76,7	3,43, t (8,6)	3'''	82,0	3,53, t (9,0)	3''''''''	76,7	3,41, t (8,7)
4'''	68,3	3,39, m	4''''''''	69,5	3,45, t (8,8)	4'''	68,3	3,39, t (8,8)	4''''''''	69,5	3,43, t (8,7)
5'''	76,3	3,33, m	5''''''''	76,4	3,52, m	5'''	76,3	3,33, m	5''''''''	76,4	3,52, m
6'''	60,9	3,72, dd (11,6-4,4)	6''''''''	68,0	3,78, dd (11,5-5,1)	6'''	60,9	3,72, dd (11,6-3,3)	6''''''''	68,0	3,78, dd (11,7-4,7)
		3,86, m			4,14, dd (11,5-1,8)			3,85, dd (11,6-2,0)			4,14, dd (11,7-1,9)
Rha II			Glc III			Rha II			Glc III		
1''''	100,9	5,22, d (1,6)	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)	1''''	100,9	5,22, d (1,2)	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)
2''''	70,8	3,98, dd (3,1-1,6)	2''''''''	73,7	3,23, dd (9,2-7,8)	2''''	70,8	3,98, m	2''''''''	73,7	3,23, dd (9,0-7,8)
3''''	70,8	3,96, m	3''''''''	76,6	3,37, t (9,2)	3''''	70,9	3,96, dd (9,5-3,0)	3''''''''	76,5	3,37, m
4''''	82,6	3,61, t (9,5)	4''''''''	70,1	3,30, t (9,2)	4''''	82,6	3,61, t (9,5)	4''''''''	70,1	3,31, t (8,7)
5''''	67,2	4,12, m	5''''''''	76,6	3,26, m	5''''	67,2	4,12, m	5''''''''	76,6	3,25, m
6''''	16,7	1,35, d (6,1)	6''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,6)	6''''	16,7	1,35, d (6,1)	6''''''''	61,3	3,67, dd (11,9-5,5)
					3,87, dm (12,0)						3,86, dd (11,9-2,0)
Glc I						Glc I					
1''''''	104,4	4,62, d (7,8)				1''''''	104,4	4,62, d (7,8)			
2''''''	75,8	3,41, m				2''''''	76,2	3,41, m			
3''''''	76,1	3,80, t (9,1)				3''''''	76,1	3,80, t (9,2)			
4''''''	72,9	3,81, t (9,1)				4''''''	73,0	3,83, t (9,2)			
5''''''	76,2	3,41, m				5''''''	75,8	3,41, m			
6''''''	59,7	3,88, m				6''''''	59,6	3,88, dd (12,9-4,1)			
		3,96, dd (12,8-2,9)						3,95, m			

Tableau III-7: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine des composés (Sp2 –Sp5) dans CD₃OD.

Position	Composé Sp 2		Composé Sp 3		Composé Sp 4		Composé Sp 5	
	δ_c	δ_H (J en Hz)	δ_c	δ_H (J en Hz)	δ_c	δ_H (J en Hz)	δ_c	δ_H (J en Hz)
1	38,6	1,00, td (13,6-3,3)	38,6	1,00, td (13,5-4,4)	38,6	1,00, td (13,7-3,9)	38,5	1,00, m
		1,64, m		1,62, m		1,63, m		1,64, m
2	25,7	1,73, m	25,9	1,70, m	25,9	1,70, m	25,7	1,73, m
		1,86, m		1,82, m		1,82, m		1,86, td (13,3-3,4)
3	89,2	3,14, dd (11,8-4,5)	88,9	3,14, dd (11,5-4,2)	88,9	3,14, dd (11,7-4,3)	89,2	3,13, dd (11,7-4,3)
4	38,9	-	38,9	-	38,9	-	38,9	-
5	55,7	0,80, d (12,3)	55,8	0,80, d (11,9)	55,9	0,80, d (12,0)	55,7	0,80, m
6	18	1,43, m	18,0	1,42, td (13,2-3,2)	18,0	1,43, m	18,0	1,43, m
		1,56, m		1,56, m		1,56, m		1,55, m
7	32,5	1,34, m	32,5	1,33, m	32,5	1,34, m	32,5	1,34, m
		1,51, td (12,2-3,3)		1,50, td (13,0-3,5)		1,50, td (12,4-3,5)		1,50, td (12,2-3,5)
8	39,3	-	39,3	-	39,3	-	39,3	-
9	47,6	1,60, m	47,9	1,60, m	47,6	1,60, m	47,7	1,60, m
10	36,5	-	36,5	-	36,5	-	36,5	-
11	23,1	1,91, m	23,1	1,90, m	23,1	1,90, m	23,1	1,91, m
12	122,4	5,27, t (3,7)	122,4	5,27, t (3,6)	122,4	5,27, t (3,6)	122,4	5,27, t (3,4)
13	143,5	-	143,5	-	143,5	-	143,5	-
14	41,5	-	41,5	-	41,5	-	41,5	-
15	27,5	1,10, dm (13,7)	27,5	1,10, dm (13,9)	27,5	1,10, dm (13,6)	27,5	1,10, dm (13,9)
		1,80, td (13,7-3,0)		1,80, m		1,80, m		1,80, m
16	22,6	1,73, m	22,6	1,73, m	22,4	1,73, m	22,6	1,73, m
		2,07, td (13,3-3,7)		2,07, td (13,6-3,6)		2,07, td (13,2-3,4)		2,07, td (13,2-3,3)
17	46,6	-	46,6	-	46,6	-	45,8	-
18	41,1	2,88, dd (13,7, 4,0)	41,1	2,88, dd (13,6-4,1)	41,1	2,88, dd (13,5-4,0)	41,1	2,88, dd (13,4-4,1)
19	45,9	1,16, m	45,3	1,16, m	45,8	1,16, m	46,6	1,16, m
		1,73, t (13,7)		1,73, t (13,6)		1,73, t (13,5)		1,73, t (13,4)
20	30,2	-	30,1	-	30,1	-	30,1	-
21	33,5	1,24, m	33,5	1,24, m	33,5	1,24, m	33,5	1,24, m
		1,42, td (13,0-2,6)		1,42, td (13,6-4,1)		1,42, m		1,42, td (13,2-3,5)
22	31,8	1,62, m	31,8	1,62, m	31,7	1,62, m	31,8	1,62, m
		1,74, m		1,74, m		1,74, m		1,74, m
23	27,3	1,05, s	27,1	1,07, s	27,1	1,07, s	27,2	1,05, s
24	15,8	0,88, s	15,8	0,87, s	15,85	0,88, s	15,8	0,87, s
25	14,7	0,98, s	14,8	0,96, s	14,8	0,97, s	14,8	0,98, s
26	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s
27	24,9	1,18, s	24,9	1,17, s	24,9	1,17, s	24,9	1,17, s
28	176,7	-	176,7	-	176,7	-	176,7	-
29	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s
30	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s

Tableau III-8: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) de la partie génine des composés (**Sp6–Sp8 et Sp13**) dans CD_3OD .

position	Composé Sp 6		Composé Sp 7		Composé Sp 8		Composé Sp 13	
	δ_c	$\delta_H(\text{J en Hz})$	δ_c	$\delta_H(\text{J en Hz})$	δ_c	$\delta_H(\text{J en Hz})$	δ_c	$\delta_H(\text{J en Hz})$
1	38,7	1,00, td (13,9-3,3) 1,63, m	38,6	1,00, m 1,63, m	38,5	1,00, m 1,64, m	38,6	1,00, td (13,9-3,3) 1,63, m
2	25,9	1,70, m 1,83, m	25,7	1,86, m 1,76, m	25,7	1,73, m 1,86, m	25,9	1,70, m 1,83, m
3	88,8	3,14, dd (11,5-4,3)	89,2	3,14, dd (11,5-4,2)	89,2	3,14, dd (11,6-4,2)	88,9	3,14, dd (11,5-4,1)
4	38,9	-	38,9	-	38,9	-	38,9	-
5	55,9	0,80, d (12,1)	55,7	0,80, m	55,7	0,80, m	55,8	0,80, m
6	18,0	1,43, m 1,56, m	18,0	1,42, m 1,56, m	18,0	1,42, td (13,8-3,0) 1,55, m	18,0	1,43, m 1,56, m
7	32,5	1,34, m 1,50, td (12,6-3,3)	32,5	1,32, m 1,50, td (11,6-4,5)	32,5	1,34, m 1,50, td (12,0-3,1)	32,5	1,34, m 1,50, m
8	39,3	-	39,3	-	39,3	-	39,3	-
9	47,8	1,60, m	47,8	1,60, m	47,9	1,60, m	47,8	1,60, m
10	36,5	-	36,5	-	36,5	-	36,5	-
11	23,1	1,90, m	23,2	1,92, m	23,2	1,92, m	23,2	1,90, m
12	122,4	5,27, t (3,6)	122,4	5,27, t (3,5)	122,4	5,27, t (3,6)	122,4	5,27, t (3,5)
13	143,5	-	143,5	-	143,5	-	143,5	-
14	41,5	-	41,5	-	41,5	-	41,5	-
15	27,3	1,10, dm (14,2) 1,80, m	27,5	1,11, dm (13,9) 1,80, td (13,9-3,2)	27,5	1,10, dm (14,1) 1,80, td (14,1-3,3)	27,5	1,10, dm (14,0) 1,80, m
16	22,6	1,73, m 2,07, td (13,4-3,7)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,2-3,4)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,2-3,3)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,4-3,7)
17	46,6	-	46,6	-	46,6	-	46,6	-
18	41,1	2,88, dd (13,6-4,1)	41,2	2,88, dd (13,5-3,7)	41,1	2,88, dd (13,6-4,3)	41,1	2,88, dd (13,7-4,1)
19	45,9	1,17, m 1,73, t (13,6)	45,8	1,17, m 1,73, t (13,5)	46,6	1,16, m 1,73, t (13,6)	45,8	1,17, m 1,73, t (13,7)
20	30,2	-	30,2	-	30,1	-	30,2	-
21	33,5	1,24, m 1,42, td (12,9, 3,3)	33,5	1,24, m 1,42, td (13,4-3,4)	33,5	1,24, m 1,42, td (13,4-3,0)	33,5	1,24, m 1,42, td (13,2-4,2)
22	31,8	1,62, m 1,74, td (13,6-3,5)	31,8	1,62, m 1,74, m	31,8	1,62, m 1,74, td (13,7, 4,6)	31,8	1,62, m 1,74, td (13,6, 3,5)
23	27,2	1,07, s	27,2	1,05, s	27,2	1,06, s	27,1	1,07, s
24	15,9	0,88, s	15,8	0,88, s	15,7	0,87, s	15,8	0,87, s
25	14,8	0,97, s	14,8	0,98, s	14,8	0,98, s	14,8	0,97, s
26	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s
27	25,0	1,17, s	24,9	1,19, s	24,9	1,17, s	24,9	1,17, s
28	176,7	-	176,7	-	176,7	-	176,7	-
29	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s
30	22,7	0,97, s	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s

Les composés **Sp9-Sp12** sont des bidesmosides de l'hédéragénines leurs structures sont établies par comparaison avec ceux déjà décrites précédemment (**Sp6, Sp7, Sp8, Sp13**). Dans un premier temps nous allons élucider la structure de la génine comparé avec celle déjà établie pour le premier groupe de saponine après nous indiquons seulement les différences qui résides dans la partie osidique de chaque composé.

III.1.1.8 Détermination structurale des composés Sp9, Sp12

La formule brute des composés **Sp9 et Sp12** a été déterminée à $C_{83}H_{137}O_{45}$ grâce l'analyse des spectres de masse HR-ESI-MS (Figure III-78) qui montre des ions pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 1853,8469 et 1853,8445 respectivement, (calculé 1853,8432) soit un gain de 16 *uma* par rapport à celles des saponosides **Sp8 et Sp13**, laisse suggérer la présence d'un oxygène de plus dans la structure du **Sp9 et Sp12**, soit une oxydation au niveau des génine.

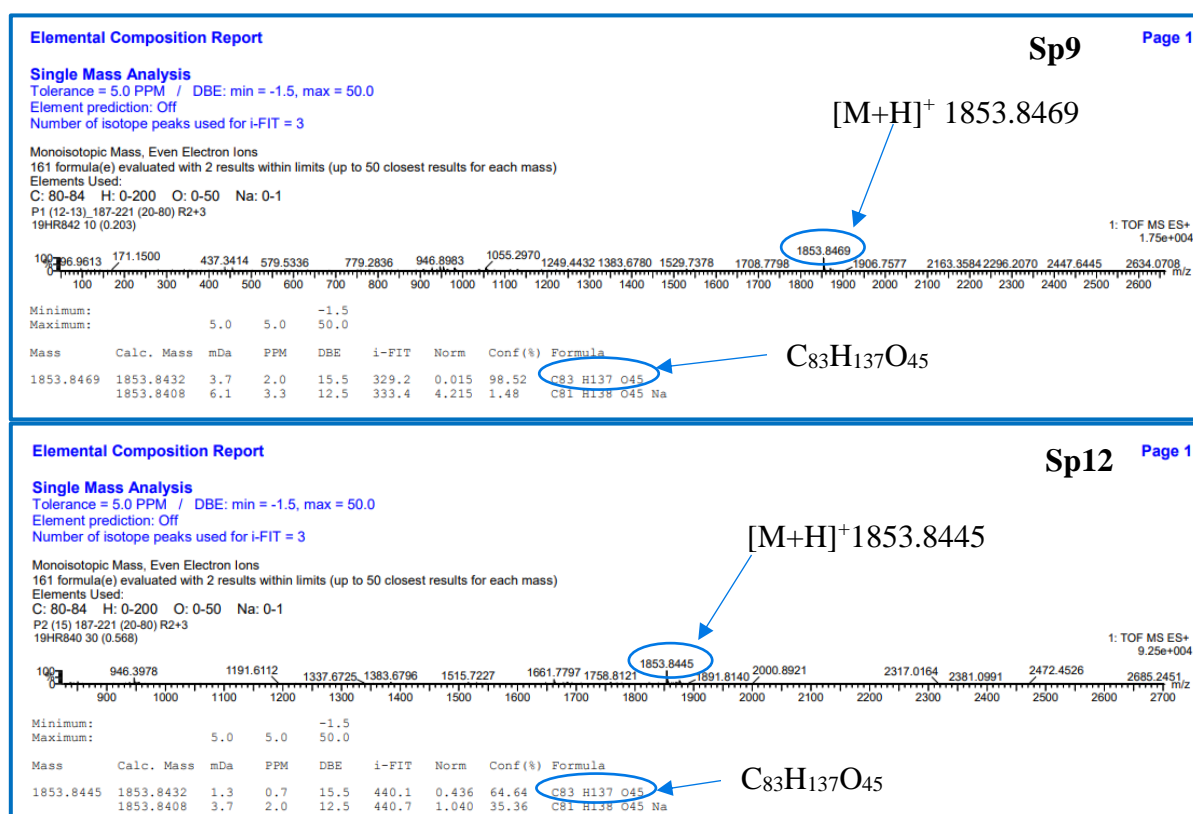


Figure III-78 : Spectres de masse HR-ESIMS des composés Sp9 et Sp12.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C J -modulé du composé **Sp9** (Figure III-79, III-81) sont très voisins de celui du composé **Sp8**. En effet, on reconnaît pratiquement tous les signaux de la génine et des 9 unités osidiques. La seule différence notable entre ces deux composés se situe au niveau de la génine et cela par la disparition du signal d'un méthyle et l'apparition du signal de deux protons géminés à δ_{H} 3,35 et 3,60 ppm (Figure III-79) portés par un carbone oxydé vers δ_{C} 63,1 (Figure III-80).

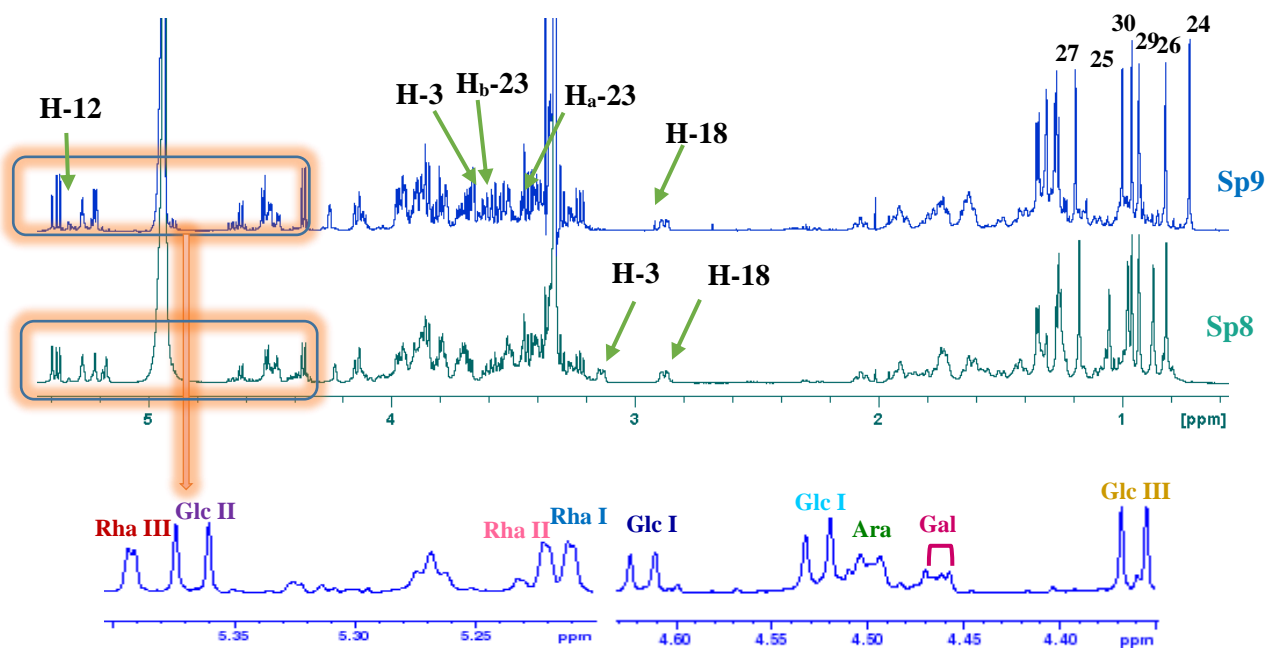


Figure III-79 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp9** par comparaison avec le composé **Sp8**.

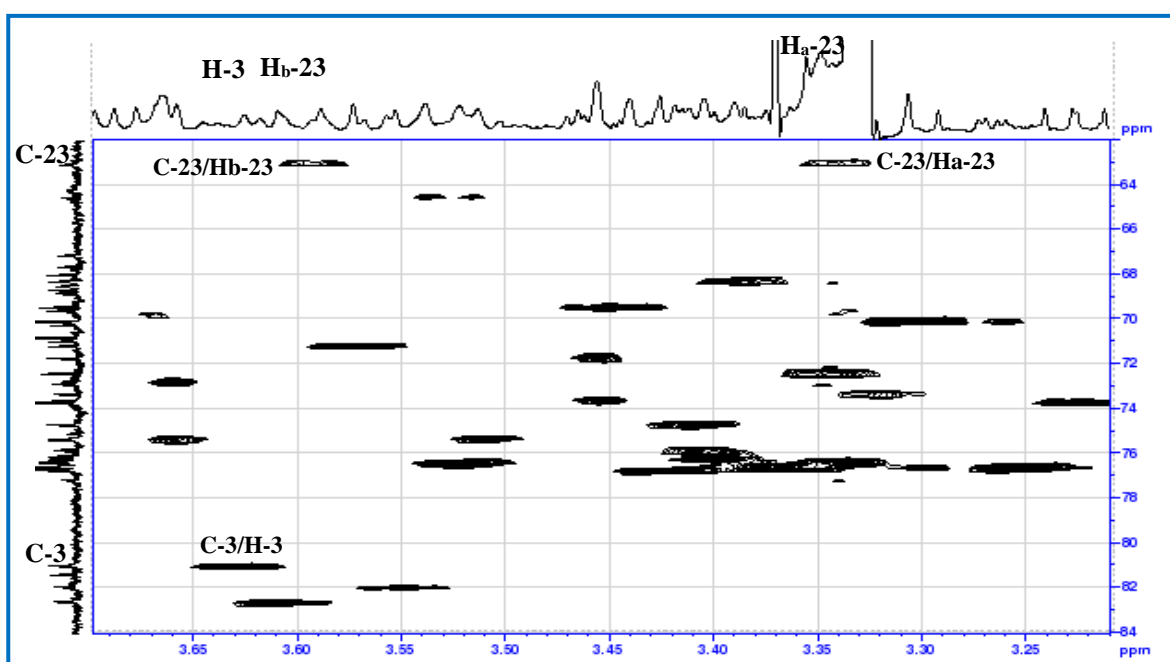


Figure III-80 : Spectre HSQC du composé **Sp9** (partie génine).

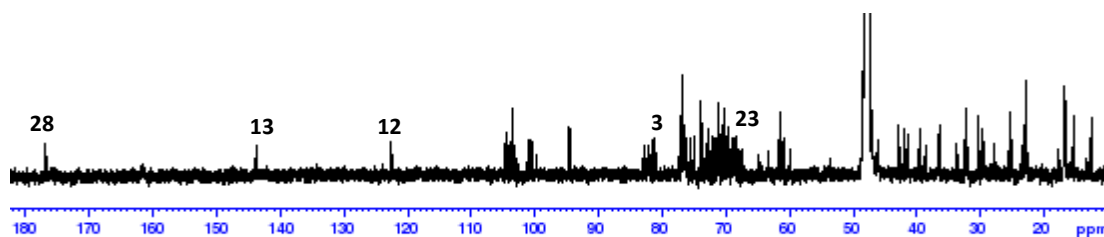
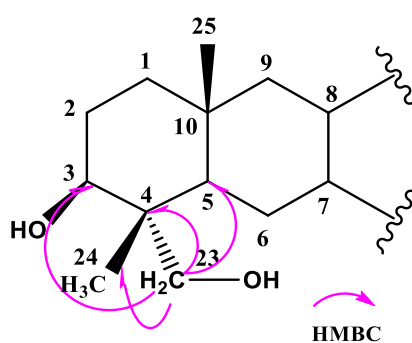


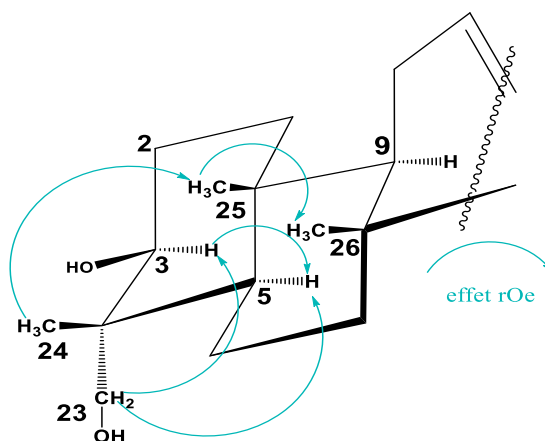
Figure III-81 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp9**.

Les deux protons géminés $\text{H}_a\text{-23}$ ($\delta_{\text{H}} 3,35$ ppm, m), $\text{H}_b\text{-23}$ (3,60 ppm, *d*, $J=9,4\text{Hz}$) corréler sur le spectre HMBC (Figure III-82) avec les carbones C-3(81,0 ppm), C-4($\delta_{\text{C}} 42,6$ ppm), C-5($\delta_{\text{C}} 46,7$ ppm) et C-24($\delta_{\text{C}} 12,4$ ppm), confirmant ainsi la localisation de la fonction CH_2OH en C-23.



Corrélations HMBC du groupement CH_2OH de la génine du composé **Sp9**

Ces corrélations sont confirmés par les effets rOe observés entre $\text{H}_b\text{-23}$, H-5 et H-3 et entre les méthyles $\text{CH}_3\text{-24}$ et $\text{CH}_3\text{-25}$.



Corrélations ROESY groupement CH_2OH de la génine du composé **Sp9**

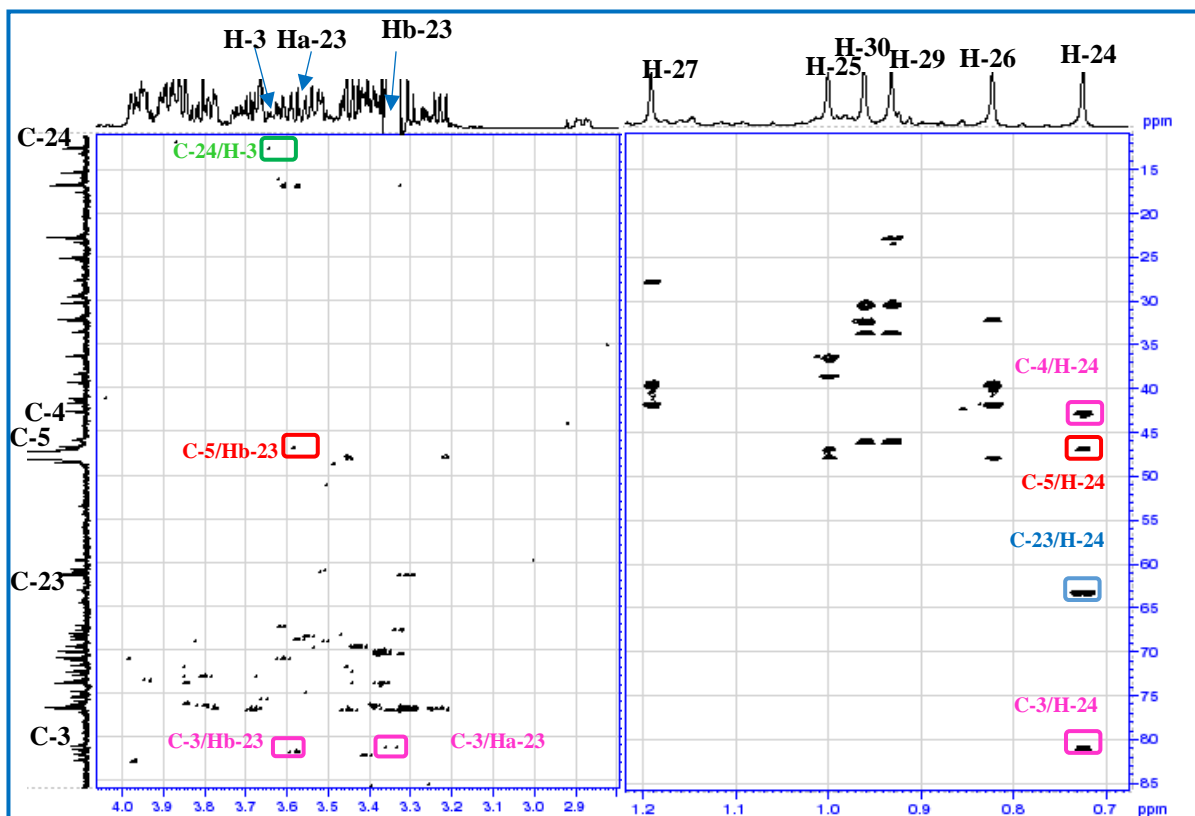
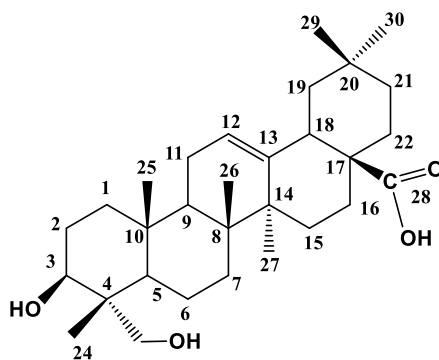


Figure III-82 : Spectre HMBC de la partie génine du composé **Sp9**.

L'analyse conjointe des spectres COSY, HSQCJ-modulé et HMBC nous a permis d'attribuer tous les déplacements chimiques des protons et carbones de la génine du composé **Sp9** (Tableau III-9) qui est identifié comme étant l'hédéragénine et par comparaison avec les données de la littérature [Alabdul Magid et al., 2006; Mahato et Kundu., 1994].



Hédéragénine

D'après l'analyse combinée des spectres COSY, ROESY, HSQC -TOCSY, HSQC *J*-modulé et HMBC, la partie osidique est constituée de deux chaînes liées en C-3 et C-28 est identifié identique point par point à la partie osidique du **Sp8** (Tableau III-9, III-7).

Concernant le séquençage les corrélations osidiques observées sur le spectre HMBC du composé **Sp9** sont identiques à celles déjà décrites pour le composé **Sp8**.

H-1'''''' Rha III terminal et **C-3''''''** Glc II,

H-1'''''''''' Gal terminal et **C-4''''''** Glc II,

H-1'''''' Glc II et **C-4''''''** Rha II,

H-1'''''' Rha II et **C-3''''''**Glc I,

H-1'''' Glc I et **C-3''** Rha I,

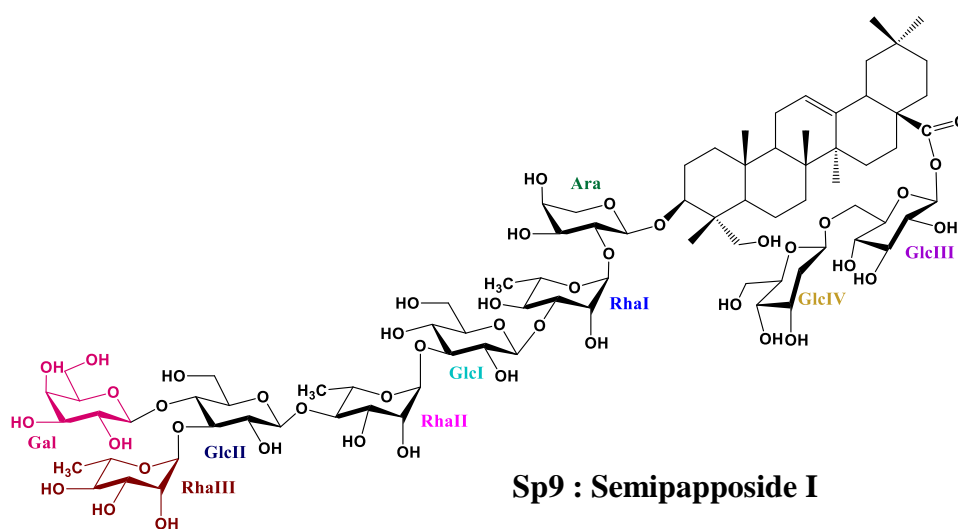
H-1'' Rha I et **C-2'** Ara,

H-1' Ara et **C-3** de la génine.

H-1'''''''''' Glc IV et **C-6''''''''** Glc III,

H-1'''''''' Glc III et **C-28** de la génine.

A la fin de cette analyse nous attribuons au saponoside **Sp9** la structure : 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine. Une nouvelle structure dénommée **Semipapposide I**. [Bendamene et al., 2020].



L'analyse détaillée des spectres de RMN 1D et 2D montre que le composé **Sp12** présente la même génine et les mêmes enchainements osidiques que ceux rencontrés dans **Sp9** mais avec le β -D-Xylose comme premier sucre de la chaîne $-\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-xylopyranosyl]- liée en C-3 de la génine. Ce résultat est appuyé par les corrélations HMBC et ROESY observés entre **C-3** de la génine et **H-1'** du **Xyl I** à δ_H/δ_C (4.47) Xyl -H-1' / (δ_C 80.9) C-3 et δ_H/δ_H (4.47) Xyl-H-1' / (δ_H 3.63,dd, $J= 10.0$ -5.4 Hz ,H-3) respectivement.

L'ensemble des données spectrales accumulées ([Tableau III-9](#)) nous a permis d'attribuer à la nouvelle saponine **Sp12** la structure suivante : 3-*O*- $[\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-xylopyranosyl]-28-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine, dénommée **Semipapposide L** [[Bendamene et al., 2020](#)].

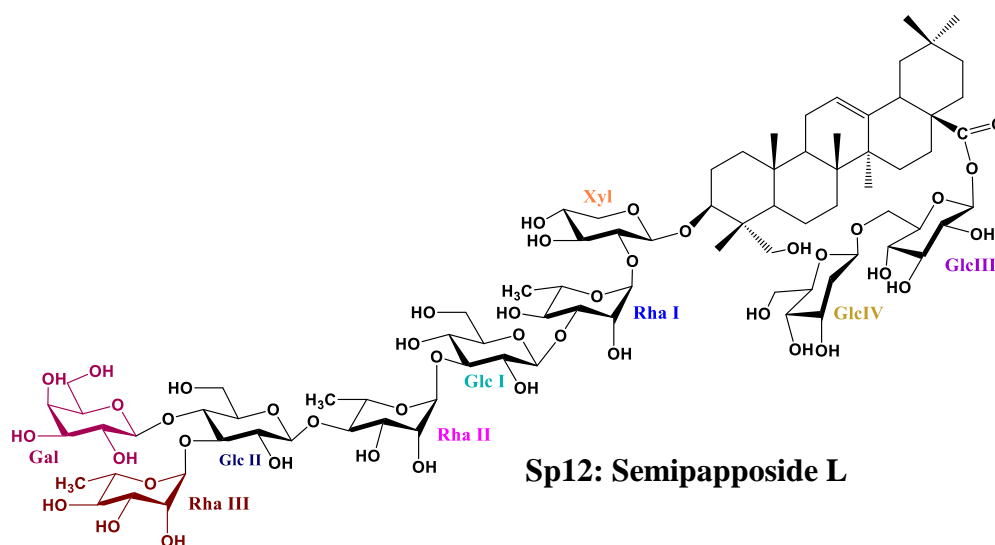


Tableau III-9: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique des composés **Sp9** et **Sp12** dans **CD₃OD**.

Partie osidique											
Composé Sp9						Composé Sp12					
Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H (J en Hz)
C-3	Ara		Rha III			C-3	Xyl I		Rha III		
1'	103,8	4,50, d (6,0)	1''''''	99,5	5,39, d (1,5)	1'	104,4	4,47, d (7,3)	1''''''	99,5	5,39, d (1,3)
2'	75,4	3,66, m	2''''''	71,0	3,90, dd (3,4-1,5)	2'	77,2	3,30, dd (8,8-7,3)	2''''''	71,1	3,91, dd (3,2-1,3)
3'	72,8	3,66, m	3''''''	70,4	3,95, dd (9,2-3,4)	3'	77,3	3,41, m	3''''''	70,3	3,95, dd (9,3-3,2)
4'	68,5	3,77, m	4''''''	73,4	3,32, m	4'	70,3	3,46, m	4''''''	73,3	3,32, m
5'	64,5	3,53, d (9,9)	5''''''	67,7	4,51, m	5'	65,3	3,19, t (10,5)	5''''''	67,7	4,50, m
		3,85, d (9,9)	6''''''	16,5	1,26, d (6,1)			3,84, m	6''''''	16,5	1,27, d (6,2)
	Rha I		Gal				Rha I		Gal		
1''	100,3	5,21, d (1,4)	1''''''''	102,9	4,46, d (7,5)	1''	100,2	5,30, d (1,3)	1''''''''	102,9	4,46 d (7,6)
2''	69,6	4,25, dd (3,4-1,4)	2''''''''	71,7	3,46, m	2''	69,4	4,28, dd (2,5-1,3)	2''''''''	71,7	3,46, m
3''	81,4	3,90, dd (9,4-3,4)	3''''''''	73,6	3,46, m	3''	81,5	3,93, dd (9,6-2,5)	3''''''''	73,6	3,45, m
4''	71,2	3,57, t (9,4)	4''''''''	68,8	3,85, m	4''	71,4	3,57, t (9,6)	4''''''''	68,8	3,84, m
5''	68,7	3,95, m	5''''''''	75,3	3,51, m	5''	68,7	3,98, m	5''''''''	75,3	3,51, m
6''	16,7	1,27, d (5,9)	6''''''''	60,7	3,80, m	6''	16,7	1,27, d (6,2)	6''''''''	60,7	3,80, m
Glc I			C-28	Glc II		Glc I			C-28	Glc II	
1'''	104,3	4,53, d (7,8)	1''''''	94,3	5,37, d (8,2)	1'''	104,3	4,52, d (7,7)	1''''''	94,3	5,36, d (8,2)
2'''	74,7	3,41, t (8,8)	2''''''	72,4	3,34, m	2'''	74,7	3,42, m	2''''''	72,4	3,35, m
3'''	81,9	3,54, t (8,8)	3''''''	76,7	3,42, t (8,7)	3'''	81,9	3,55, t (9,2)	3''''''	76,7	3,41, t (9,1)
4'''	68,3	3,39, t (8,8)	4''''''	69,5	3,45, t (9,4)	4'''	68,3	3,39, t (8,8)	4''''''	69,5	3,41, t (9,1)
5'''	76,3	3,35, m	5''''''	76,4	3,53, m	5'''	76,3	3,36, m	5''''''	76,4	3,53, m
6'''	61,0	3,72, dd (11,8-4,9)	6''''''	68,0	3,78, dd (11,8-3,4)	6'''	61,0	3,72, dd (12,0-5,3)	6''''''	68,0	3,78, dd (11,7-4,9)
		3,89, dd (11,8-2,0)			4,14, dd (11,8-1,9)			3,88, m			4,14, dd (11,7-1,9)
	Rha II		Glc III				Rha II		Glc III		
1''''	100,9	5,22, brs	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)	1''''	100,9	5,22, d (1,2)	1''''''''	103,2	4,36, d (7,8)
2''''	70,8	3,98, dd (3,2-1,7)	2''''''''	73,7	3,22, dd (9,2-7,8)	2''''	70,8	3,98, dd (3,0-1,2)	2''''''''	73,7	3,2, dd (9,1-7,8)
3''''	70,8	3,96, m	3''''''''	76,6	3,37, t (9,0)	3''''	70,8	3,96, dd (9,6-3,0)	3''''''''	76,6	3,37, m
4''''	82,6	3,61, t (9,5)	4''''''''	70,1	3,30, t (8,6)	4''''	82,6	3,60, t (9,6)	4''''''''	70,1	3,31, t (8,8)
5''''	67,2	4,12, m	5''''''''	76,6	3,25, ddd (8,6-5,6-2,3)	5''''	67,2	4,12, m	5''''''''	76,6	3,25, m
6''''	16,7	1,35, d (6,2)	6''''''''	61,3	3,68, dd (12,0-5,6)	6''''	16,7	1,35, d (6,1)	6''''''''	61,3	3,67, dd (12,0-5,6)
					3,86, dd (12,0-2,3)						3,86, dd (12,0-2,0)
	Glc II						Glc I				
1''''''	104,4	4,62, d (7,8)				1''''''	104,4	4,62, d (7,8)			
2''''''	76,2	3,40, m				2''''''	76,2	3,41, m			
3''''''	76,1	3,80, t (9,2)				3''''''	76,1	3,80, t (9,2)			
4''''''	72,9	3,83, t (9,2)				4''''''	72,9	3,83, t (9,2)			
5''''''	75,8	3,40, m				5''''''	75,8	3,41, m			
6''''''	59,6	3,88, dd (11,8-5,3)				6''''''	59,6	3,88, m			
		3,95, dm (11,8)						3,95, dd (12,9-3,2)			

III.1.1.9 Détermination structurale des composés Sp10, Sp11

Sur les spectres de masse à haute résolution ESI-MS (Figure III-83) ESI-MS mode positif des saponosides **Sp10** et **Sp11**, sont observé des ions pseudo-moléculaires $[M+H]^+$ à m/z 1823,8333 et 1823,8347 (calculé 1823.8326), respectivement. Comparativement aux saponosides précédents **Sp7** et **Sp6**, les saponosides **Sp10** et **Sp11** comprennent un oxygène supplémentaire +16 *uma*.

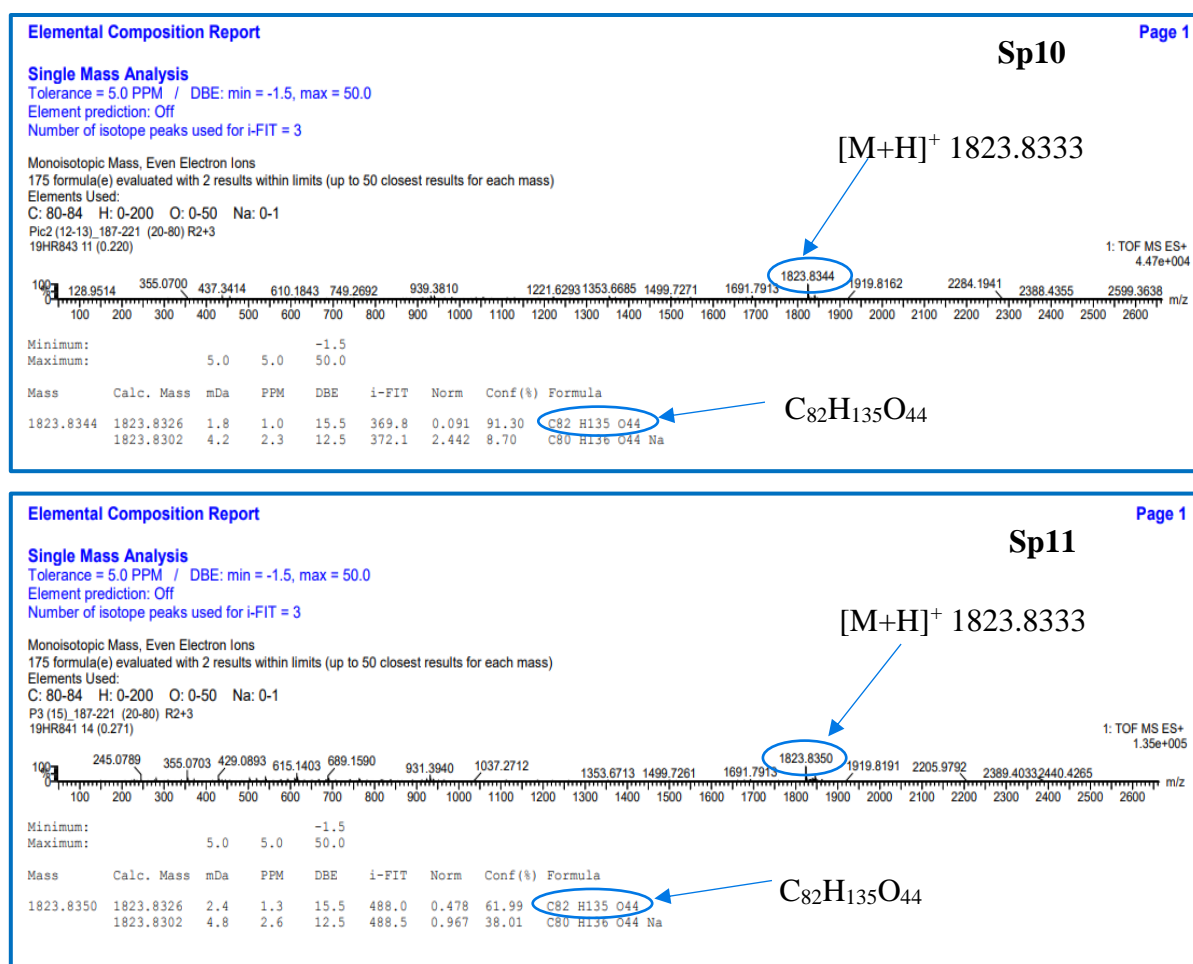


Figure III-83 : Spectres des masses HR-ESI-MS des composés **Sp10** et **Sp11**.

L'analyse combinée des spectres de RMN ^1H , ^{13}C *J*-modulé, COSY, HSQC *J*-modulé, HMBC et TOCSY du composé **Sp10** permet de retrouver les mêmes signaux de la partie osidique décrits pour le saponoside **Sp7** (Tableau III-10, III-5) avec l'hédéragenine comme partie aglycone.

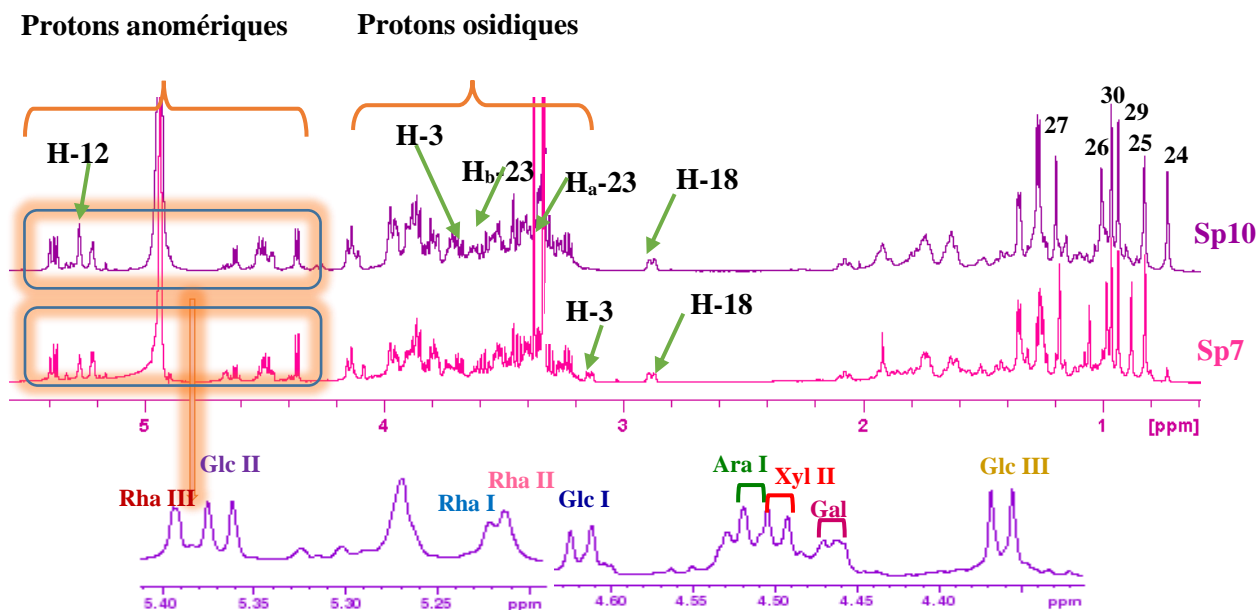
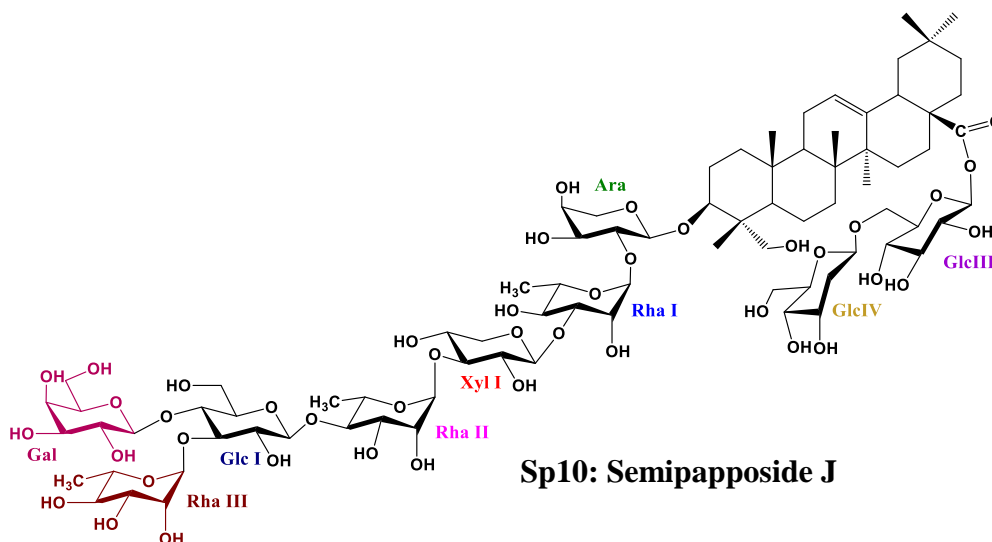


Figure III-84 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp10** par comparaison avec le composé **Sp7**.

Ainsi, la saponine **Sp10** est identifiée comme la 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine. une nouvelle structure dénommée **Semipapposide J** [Bendamene et al., 2020].



De manière similaire l'analyse combinée des spectres de RMN ^1H , ^{13}C *J*-modulé, COSY, HSQC *J*-modulé, HMBC et TOCSY du composé **Sp11** permet de retrouver les mêmes signaux de la partie osidique décrits pour le saponoside **Sp6** (Figure III-85, Tableau III-10, III-5) avec l'hédéragenine comme partie aglycone.

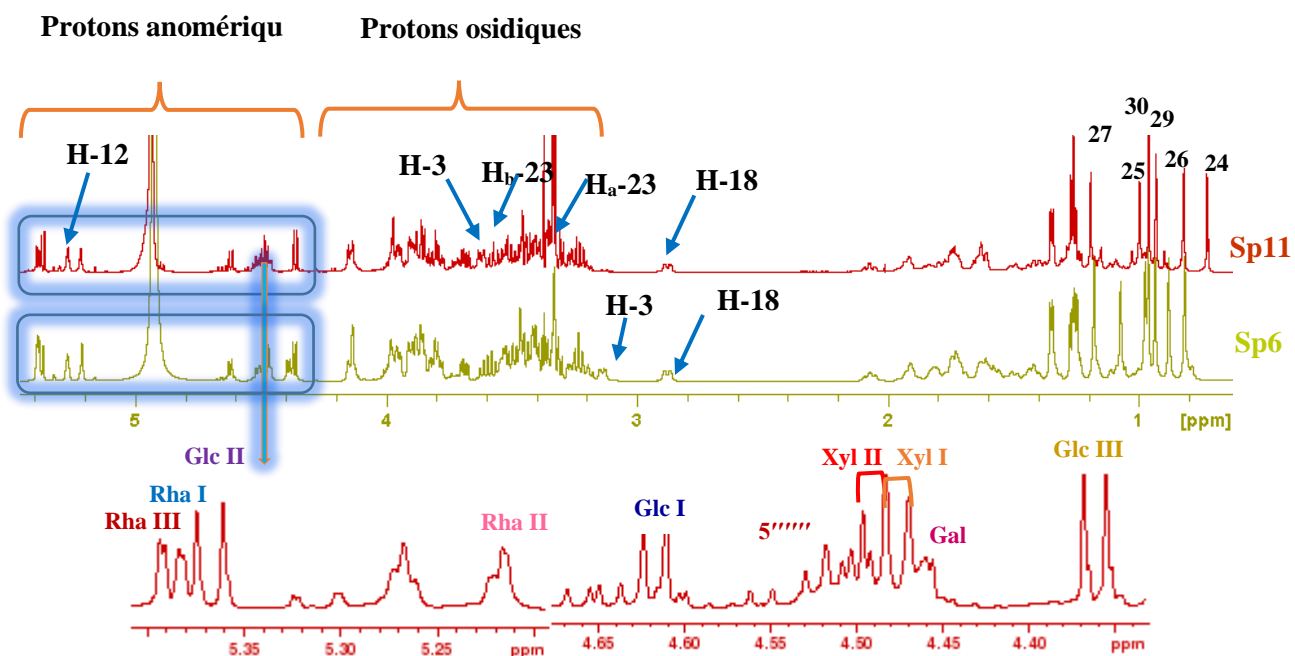


Figure III-85 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp11** par comparaison avec le composé **Sp6**.

Ainsi, la structure de **Sp11** est donc déterminée comme la suivante: 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine établis pour la nouvelle saponine dénommée **Semipapposide K** [Bendamene et al., 2020].

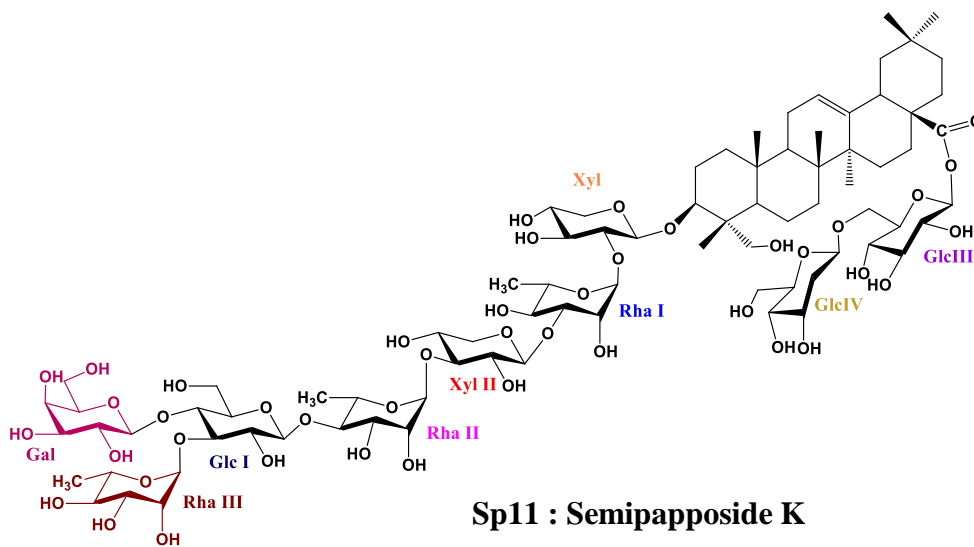


Tableau III-10 :Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique des composés **Sp10** et **Sp11** dans **CD₃OD**.

Partie osidique											
Composé Sp10						Composé Sp11					
Position	δ_C	δ_H (J en Hz)	Position	δ_C	δ_H (J en Hz)	Position	δ_C	δ_H (J en Hz)	Position	δ_C	δ_H (J en Hz)
C-3	Ara		Rha III			Xyl I			Rha III		
1'	103,5	4,52, d (6,6)	1''''''	99,5	5,39, d (1,3)	1'	104,2	4,48, d (7,9)	1''''''	99,5	5,39 d (1,6)
2'	74,7	3,72, dd (8,5-6,6)	2''''''	71,0	3,90, dd (3,4-1,3)	2'	76,4	6,36, dd (8,5-7,9)	2''''''	71,0	3,90, dd (3,3-1,6)
3'	72,9	3,71, dd (8,5-3,4)	3''''''	70,3	3,94, dd (9,6-3,4)	3'	77,6	3,45, t (8,5)	3''''''	70,3	3,95, dd (9,6-3,3)
4'	68,5	3,77, m	4''''''	73,4	3,32, m	4'	70,3	3,48, m	4''''''	73,4	3,32, m
5'	64,3	3,52, dd (11,2-5,3)	5''''''	67,7	4,50, m	5'	65,3	3,20, t (10,5)	5''''''	67,7	4,50, m
		3,88, m	6''''''	16,5	1,26, d (6,2)			3,84, dd (10,5-1,9)	6''''''	16,5	1,27, d (1,6)
	Rha I		Gal				Rha I		Gal		
1''	99,9	5,26, brs	1''''''''	102,9	4,46, d (7,8)	1''	99,9	5,38, d (1,4)	1''''''''	102,9	4,46, d (8,1)
2''	70,2	4,10, dd (3,2-1,5)	2''''''''	71,7	3,46, m	2''	70,0	4,14, dd (3,6-1,4)	2''''''''	71,7	3,46, m
3''	80,7	3,88, dd (9,7-3,2)	3''''''''	73,6	3,46, m	3''	80,8	3,90, dd (9,5-3,6)	3''''''''	73,6	3,46, m
4''	71,4	3,57, t (9,7)	4''''''''	68,9	3,84, m	4''	71,3	3,57, t (9,5)	4''''''''	68,9	3,84, m
5''	68,5	3,94, m	5''''''''	75,3	3,51, m	5''	68,5	3,98, m	5''''''''	75,3	3,52, m
6''	16,7	1,26, d (6,2)	6''''''''	60,7	3,80, m	6''	16,7	1,25, d (6,3)	6''''''''	60,7	3,80, m
	Xyl I		C-28	Glc II		Xyl II			C-28	Glc II	
1'''	105,1	4,50, d (7,5)	1''''''''	94,3	5,37, d (8,2)	1'''	105,1	4,49, d (7,9)	1''''''''	94,3	5,37, d (8,2)
2'''	74,6	3,40, dd (8,7-7,5)	2''''''''	72,4	3,35, m	2'''	74,6	3,40, dd (8,6-7,9)	2''''''''	72,4	3,35, m
3'''	81,5	3,49, t (9,0)	3''''''''	76,7	3,43, t (8,9)	3'''	81,5	3,50, t (8,6)	3''''''''	76,7	3,43, t (8,9)
4'''	68,3	3,52, m	4''''''''	69,5	3,46, t (8,9)	4'''	68,3	3,53, m	4''''''''	69,5	3,46, t (8,8)
5'''	65,7	3,24, t (9,7)	5''''''''	76,4	3,52, m	5'''	65,7	3,25, t (9,8)	5''''''''	76,4	3,53, m
		3,87, dd (9,7-1,9)	6''''''''	68,0	3,77, dd (11,2-4,5)			3,89, dd (9,8-1,9)		68,0	3,78, m
	Rha II			Glc III			Rha II			Glc III	
1''''	100,7	5,21, d (1,3)		103,2	4,36, d (7,8)	1''''	100,7	5,22, d (1,2)		103,2	4,36, d (7,8)
2''''	70,9	3,97, dd (2,9-1,3)		73,7	3,22, dd (9,1-7,8)	2''''	70,8	3,97, dd (3,4-1,2)		73,7	3,23, dd (9,0-7,8)
3''''	70,8	3,95, dd (9,7-2,9)	1''''''''	76,6	3,35, t (9,0)	3''''	70,8	3,96, dd (9,4-3,4)	1''''''''	76,6	3,37, t (9,0)
4''''	82,6	3,61, t (9,7)	2''''''''	70,1	3,31, t (8,7)	4''''	82,7	3,61, t (9,4)	2''''''''	70,1	3,31, t (8,6)
5''''	67,1	4,13, m	3''''''''	76,5	3,25, m	5''''	67,1	4,13, m	3''''''''	76,6	3,37, t (9,0)
6''''	16,6	1,34, d (6,0)	4''''''''	61,3	3,68, dd (11,9-5,5)	6''''	16,6	1,35, d (6,2)	4''''''''	70,1	3,31, t (8,6)
	Glc I						Glc I				
1''''''	104,4	4,62, d (7,8)	5''''''''			1''''''	104,4	4,62, d (7,8)	5''''''''	76,6	3,26, m
2''''''	76,3	3,40, m	6''''''''			2''''''	76,3	3,41, dd (9,3-7,8)	6''''''''	61,3	3,68, dd (11,8-5,6)
3''''''	76,1	3,80, t (9,5)				3''''''	76,1	3,81, t (9,3)			3,86, dd (11,8-1,9)
4''''''	72,9	3,83, t (9,5)				4''''''	72,7	3,83, t (9,3)			
5''''''	75,8	3,41, m				5''''''	75,8	3,41, m			
6''''''	59,6	3,87, dd (11,7-5,2)				6''''''	59,6	3,89, dd (11,3-2,2)			
		3,95, m						3,95, dd (11,3-3,5)			

Tableau III-11: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) de la partie génine des composés (**Sp09- Sp12**) dans CD_3OD .

<i>Partie génine</i>								
position	Composé Sp 9		Composé Sp 10		Composé Sp 11		Composé Sp 12	
	δ_c	δ_H m (J en Hz)	δ_c	δ_H m (J en Hz)	δ_c	δ_H m (J en Hz)	δ_c	δ_H m (J en Hz)
1	38,3	0,99, m 1,63, m	38,3	0,98, m 1,63, m	38,4	0,98, m 1,62, m	38,4	0,98, m 1,62, m
2	25,3	1,76, m 1,88, m	25,2	1,76, m 1,88, m	25,4	1,74, m 1,84, m	25,4	1,74, m 1,84, m
3	81,0	3,63, dd (12,1-4,3)	80,9	3,62, dd (12,6-3,9)	80,8	3,62, m	80,9	3,62, dd (10,0-5,4)
4	42,6	-	42,6	-	42,6	-	42,6	-
5	46,7	1,28, m	46,8	1,28, m	46,6	1,27, m	46,7	1,28, m
6	17,4	1,39, m 1,50, m	17,4	1,38, m 1,50, m	17,4	1,39, m 1,50, m	17,4	1,39, m 1,50, m
7	31,8	1,30, m 1,42, m	31,8	1,30, m 1,42, m	31,8	1,30, m 1,40, td (13,2-2,7)	31,8	1,30, m 1,42, m
8	39,3	-	39,3	-	39,4	-	39,2	-
9	47,6	1,65, m	47,6	1,64, m	47,5	1,64, m	47,5	1,64, m
10	36,2	-	36,2	-	36,8	-	36,2	-
11	23,2	1,92, m	23,1	1,92, m	23,2	1,92, m	23,1	1,92, m
12	122,4	5,27, t (3,5)	122,4	5,27, brs	122,4	5,27, t (3,3)	122,3	5,27, brs
13	143,6	-	143,6	-	143,6	-	143,6	-
14	41,6	-	41,6	-	41,6	-	41,6	-
15	27,5	1,10, dm (13,9) 1,80, td (13,9-4,6)	27,5	1,10, m 1,80, m	27,5	1,10, dm (13,9) 1,80, td (13,9-4,2)	27,5	1,10, m 1,80, m
16	22,6	1,73, m 2,07, td (13,4-3,5)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,5-3,1)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,8-3,7)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,3-3,3)
17	46,7	-	46,6	-	46,8	-	46,7	-
18	41,1	2,88, dd (13,6-4,0)	41,1	2,97, dd (12,8-2,9)	41,1	2,88, dd (13,5-4,0)	41,1	2,88, dd (13,7-3,5)
19	45,6	1,16, m 1,73, t (13,6)	45,8	1,17, m 1,73, m	45,8	1,17, m 1,73, m	45,8	1,16, m 1,73, t (13,7)
20	30,1	-	30,1	-	30,1	-	30,1	-
21	33,5	1,24, m 1,43, td (13,3-3,6)	33,5	1,24, m 1,42, m	33,5	1,24, m 1,42, t d (13,2-3,2)	33,5	1,24, m 1,42, td (13,8-3,7)
22	31,8	1,62, m 1,74, m	31,9	1,62, m 1,74, td (13,1-4,8)	31,9	1,62, m 1,74, m	31,9	1,62, m 1,74, m
23	63,1	3,35, m 3,60, d (9,4)	63,1	3,35, m 3,56, m	63,0	3,34, m 3,62, d (11,6)	63,0	3,33, m 3,64, d (12,2)
24	12,4	0,72, s	12,5	0,72, s	12,5	0,72, s	12,4	0,72, s
25	15,2	1,00, s	15,2	1,00, s	15,2	1,00, s	15,2	1,00, s
26	16,3	0,82, s	16,5	0,82, s	16,5	0,82, s	16,4	0,82, s
27	24,9	1,20, s	24,9	1,19, s	24,9	1,19, s	24,9	1,19, s
28	176,7	-	176,7	-	176,7	-	176,7	-
29	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,92, s
30	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s	22,6	0,96, s

III.1.1.10 Détermination structurale des composés Sp14-Sp16

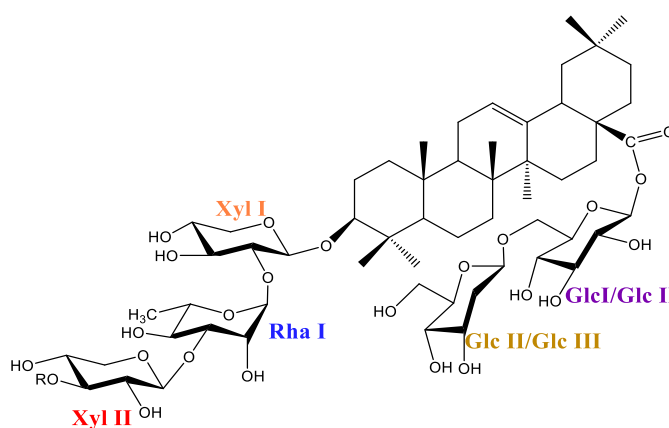
L'élucidation structurale des saponosides **Sp14**, **Sp15** et **Sp16** a été réalisée selon la méthode déjà décrite précédemment par analyse des spectres de masse ainsi que les spectres RMN 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, TOCSY, HSQC-TOCSY, HSQC *J*-modulé, HMBC et ROESY). La comparaison des déplacements chimiques (Tableau III-12, III-13) de leurs protons et carbones à ceux de la littérature révèle que ces saponosides sont de structures connues.

Le saponoside **Sp14** est : l'acide 3-*O*-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique, **Scabiosaponine E** déjà isolé à partir de *Scabiosa tschiliensis* (Caprifoliaceae) [Zheng et al., 2004].

Le saponoside **Sp15** est : l'acide 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique, **Scabiostellatoside B**.

Le saponoside **Sp16** est : acide 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique, **Scabiostellatoside D**.

Les saponosides **Sp15** et **Sp16** ont été isolés pour la première fois à partir de *Scabiosa stellata* (Caprifoliaceae) [Lehbili et al., 2018a].



R= H **Sp14: Scabiosaponine E**

R= **Rha II** **Sp15: Scabiostellatoside B**

R= **Rha II** (4 \rightarrow 1) **Glc I** **Sp16: Scabiostellatoside D**

Tableau III-12: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine des composés (**Sp14-Sp16**) dans **CD₃OD**.

Partie génine						
Composé Sp14			Composé Sp15		Composé Sp16	
Position	δ _C	δ _H m (J en Hz)	δ _C	δ _H m(J en Hz)	δ _C	δ _H m (J en Hz)
1	38,6	1,00, td (13,5-3,1) 1,63, m	38,6	1,00, td (13,5-3,1) 1,63, m	38,6	1,00, m 1,63, m
2	25,9	1,70, m 1,82, m	25,9	1,70, m 1,82, m	25,9	1,70, m 1,82, m
3	88,8	3,14, dd (11,7-4,3)	88,8	3,14, dd (11,7-4,3)	88,8	3,14, dd (11,6-4,3)
4	38,9	-	38,9	-	38,9	-
5	55,9	0,80, d (11,7)	55,9	0,80, d (12,1)	55,9	0,80, d (12,1)
6	18,0	1,42, m 1,55, m	18,0	1,42, m 1,55, m	18,0	1,42, m 1,55, m
7	32,5	1,33, m 1,51, td (13,7-4,3)	32,5	1,33, m 1,51, td (13,7-4,3)	32,5	1,33, m 1,51, td (13,7-4,3)
8	39,3	-	39,3	-	39,0	-
9	47,8	1,59, m	47,8	1,59, m	47,8	1,59, m
10	36,5	-	36,5	-	36,5	-
11	23,2	1,91, m	23,2	1,91, m	23,2	1,91, m
12	122,4	5,27, t (3,7)	122,4	5,27, t (3,6)	122,4	5,27, t (3,6)
13	143,5	-	143,5	-	143,5	-
14	41,5	-	41,5	-	41,1	-
15	27,5	1,10, dm (14,1) 1,80, m	27,5	1,10, dm (14,1) 1,80, m	27,5	1,10, dm (13,9) 1,80, m
16	22,6	1,73, m 2,07, td (13,3-3,8)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,3-3,9)	22,6	1,73, m 2,07, td (13,6-3,5)
17	46,6	-	46,6	-	46,6	-
18	41,1	2,88, dd (13,7-4,2)	41,1	2,88, dd (13,8-4,4)	41,5	2,88, dd (13,7-4,3)
19	45,8	1,17, m 1,73, t (13,7)	45,8	1,17, m 1,73, t (13,7)	45,8	1,17, m 1,73, t (13,7)
20	30,1	-	30,1	-	30,1	-
21	33,5	1,24, m 1,42, td (13,2-2,8)	33,5	1,24, m 1,42, td (13,3-2,5)	33,5	1,24, m 1,42, td (13,3-2,5)
22	31,8	1,62, m 1,73, m	31,8	1,62, m 1,73, m	31,8	1,62, m 1,73, m
23	27,1	1,07, s	27,1	1,07, s	27,1	1,07, s
24	15,9	0,88, s	15,9	0,88, s	15,8	0,88, s
25	14,8	0,97, s	14,8	0,98, s	14,8	0,98, s
26	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s	16,4	0,82, s
27	24,9	1,17, s	24,9	1,17, s	24,9	1,17, s
28	176,7	-	176,7	-	176,7	-
29	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s	32,1	0,93, s
30	22,7	0,96, s	22,7	0,96, s	22,6	0,96, s

Tableau III-13:Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique des composés(**Sp14- Sp16**) dans **CD₃OD**.

Partie osidique														
Composé Sp14			Composé Sp15						Composé Sp16					
Position	δ _C	δ _H m (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H m (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H m (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H m (J en Hz)	Position	δ _C	δ _H m (J en Hz)
C-3	Xyl I		C-3	Xyl I		C-28	Glc I		C-3	Xyl I		C-28	Glc II	
1'	105,0	4,39, d (7,1)	1'	105,0	4,39, d (7,1)	1''''	94,3	5,37, d (8,2)	1'	105,0	4,39, d (7,1)	1''''	94,3	5,37, d (8,1)
2'	76,6	3,40,dd (8,7-7,8)	2'	76,6	3,40, dd (8,5-7,2)	2''''	72,7	3,32, m	2'	76,6	3,40, dd (8,5-7,6)	2''''	72,4	3,35, m
3'	77,5	3,45, t (8,7)	3'	77,5	3,45, t (8,5)	3''''	76,4	3,53, t (8,8)	3'	77,5	3,45, t (8,6)	3''''	76,7	3,42, t (8,6)
4'	70,1	3,47, m	4'	70,1	3,47, m	4''''	69,5	3,39, t (8,8)	4'	70,2	3,47, m	4''''	69,5	3,44, t (8,6)
5'	65,2	3,19, dd (11,6-10,2)	5'	65,2	3,19,t (11,4)	5''''	76,4		5'	65,2	3,19, dd (11,5-9,8)	5''''	76,4	3,52, m
		3,84, dd (11,6-5,3)			3,84, dd (11,4-5,2)	6''''	68,0	3,73, dd (11,7-5,0)			3,84, dd (11,6-5,2)	6''''	68,0	3,78, dd (11,6-5,0)
								3,86, dd (11,7,1,6)						4,14, dd (11,6-1,7)
	Rha I			Rha I						Rha I			Glc III	
1''	99,9	5,38, d (1,5)	1''	99,9	5,38, d (1,6)				1''	99,9	5,38, d (1,5)			
2''	70,2	4,13m	2''	70,2	4,13, dd (3,1-1,6)	1''''	103,2	4,36, d (7,8)	2''	70,1	4,13, dd (3,1-1,8)	1''''	103,2	4,36, d (7,8)
3''	80,8	3,90, dd (9,7-3,4)	3''	80,7	3,90, dd (9,6-3,1)	2''''	73,7	3,23, t (9,0-7,8)	3''	80,7	3,90, dd (9,2-3,1)	2''''	73,7	3,23, dd (9,0-7,8)
4''	71,3	3,57, t (9,3)	4''	71,3	3,57, t (9,6)	3''''	76,6	3,36, m	4''	71,4	3,58, t (9,5)	3''''	76,6	3,36, m
5''	68,5	4,00, m	5''	68,6	4,00, m	4''''	70,1	3,31, t (8,7)	5''	68,5	4,00, m	4''''	70,0	3,31, t (8,9)
6''	16,6	1,25, d (6,2)	6''	16,6	1,25, d (6,2)	5''''	76,6	3,27, m	6''	16,6	1,25, d (6,2)	5''''	76,6	3,27, m
	Xyl II			Xyl II		6''''	61,3	3,66, dd (12,0-5,6)	6''''	Xyl II		6''''	61,3	3,68, dd (11,8-5,5)
1'''	104,9	4,49, d (7,6)	1'''	105,1	4,47, d (7,7)			3,86, dd (12,0-2,1)	1'''	105,1	4,47, d (7,7)			3,87, dd (11,8-2,4)
2'''	73,7	3,36, m	2'''	74,4	3,40, m				2'''	74,5	3,40, dd (8,8-7,7)			
3'''	74,6	3,49, t (8,6)	3'''	82,0	3,48, t (9,0)				3'''	81,6	3,49, t (8,8)			
4'''	68,6	3,53, m	4'''	68,4	3,53, m				4'''	68,3	3,53, m			
5'''	63,1	3,3 t (9,6)	5'''	65,7	3,23, dd (11,6-9,3)				5'''	65,7	3,23, dd (11,5-9,7)			
		3,87, m			3,87, m						3,87, m			
C-28	Glc I			Rha I						Rha I				
1''''	94,3	5,37, d (8,2)	1''''	101,1	5,21, d (1,6)				1''''	100,7	5,21, brs			
2''''	72,4	3,35, m	2''''	70,9	3,97, dd (3,3-1,7)				2''''	70,8	3,97, m			
3''''	76,7	3,42, t (8,7)	3''''	70,8	3,96, dd (9,5-3,3)				3''''	70,9	3,96, dd (9,4-3,3)			
4''''	69,5	3,44, t (8,7)	4''''	72,6	3,63, t (9,5)				4''''	82,3	3,63, t (9,4)			
5''''	76,4	3,52, m	5''''	68,5	4,12, m				5''''	67,1	4,12, m			
6''''	68,0	3,78, dd (11,6-4,8)	6''''	16,5	1,34, d (6,2)				6''''	16,5	1,34, d (6,2)			
		4,14, dd (11,6-1,8)												
	Glc II									Glc I				
1''''	103,2	4,36, d (7,8)							1''''	104,3	4,62, d (7,8)			
2''''	73,7	3,23, dd (6,2-7,8)							2''''	74,7	3,22, m			
3''''	76,6	3,37, m							3''''	76,7	3,38, t (8,6)			
4''''	70,1	3,31, m							4''''	70,0	3,33, m			
5''''	76,6	3,27, m							5''''	76,6	3,31, m			
6''''	61,3	3,66, dd (12,0-5,5)							6''''	61,3	3,73, dd (11,9-5,2)			
		3,86, dd (12,0-2,4)									3,86, dd (11,9-2,4)			

D'un point de vue chimiotaxonomique, les espèces du genre *Scabiosa* sont principalement riches en saponines composées de génines triterpéniques de type acide oléanolique, ursolique et hédéragenine. Selon des études antérieures sur *S. rotata* [Baykal et al., 1998], *S. tschilliensis* [Zheng et al., 2004; Pinto et al., 2018], *S. stellata* [Lehbili et al., 2018a], *S. songarica* [Pinto et al., 2018] et *S. sicula* [Kılınç et al., 2020], environ 52 ont été isolées. Il n'est donc pas étonnant de trouver ces composés (**Sp1-16**) dans l'espèce *S.semipapposa*.

Nos travaux personnels sur l'espèce *Scabiosa semipapposa* mènent à l'isolement et l'identification de 12 nouvelles structures de saponines bidesmosides possédants un squelette d'acide oléanolique (**1-8**) (**Semipapposide A-H**) et de l'hédéragenine (**9-12**) (**Semipapposide I-L**) avec un bidesmoside de l'acide oléanolique (**13**) (**Semipapposide M**) obtenue sous forme de mélange inséparable avec le composé (**4**), ainsi que 3 glycosides d'acide oléanolique connus (**14-16**).

Les saponines (**1-16**) isolées de *S. semipapposa* possèdent tous le gentiobiose en position C-28 et le motif partiel (-Rha-(1→2)-Xyl-) ou (-Rha-(1→2)-Ara-) en position C-3 de l'aglycone avec une glycosilation supplémentaire en C-3 du Rhamnose, ce motif commun est fréquemment rencontré dans les plantes de la famille des Caprifoliaceae.

D'après les enchaînements osidiques élucidés nous remarquons que les saponines **1,4,6,11,14,16** et **3,12,13** possèdent en position C-3 de l'aglycone le motif osidique partiel [Xyl-(1→3)-Rha-(1→2)-Xyl-] et [Glc-(1→3)-Rha-(1→2)-Xyl-] respectivement. Ces derniers ont été déjà rencontrés dans les saponines de *S. tschilliensis* [Zheng et al., 2004] et *S. stellata* [Lehbili et al., 2018a].

Ma et al. (1992) a suggéré que le motif [-Rha-(1→2)-Xyl-] en C-3 pourrait être considéré comme un marqueur chimotaxonomique des Dipsacaceae. Par exemple le motif partiel en C-3 de l'acide oléanolique [Rha-(1→3)-Xyl-(1→3)-Rha-(1→2)-Xyl-] et [Glc-(1→4)-Xyl-(1→3)-Rha-(1→2)-Xyl-] ont été précédemment observés dans les saponines isolées à partir de *Pterocephalus bretschnidri* [Tian et al., 1993b] et *P. hookeri* [Tian et al., 1993a] (Dipsacaceae) mais en remarque aussi la présence de ce Xylose chez *Triplostegia grandiflora* (Caprifoliaceae) [Ma et al., 1991].

De même nous avons trouvés que le motif partiel [Xyl-(1→3)-Rha-(1→2)-Ara-] identifié chez les saponines **2,5,7,10** et le motif partiel [Glc-(1→3)-Rha-(1→2)-Ara-] identifié chez les saponines **8** et **9** ont été précédemment décrits dans les saponines de *S. tschilliensis* [Zheng et al., 2004], and *S. stellata* [Lehbili et al., 2018a].

D'une autre part le motif en C-3 [**Xyl-(1→3)-Rha-(1→2)-Ara-**] a été déjà observé chez *Triplostegia grandiflora* (Caprifoliaceae) [Ma et al., 1991] ainsi que chez d'autres espèces du genre *Cephalaria* (Caprifoliaceae) comme *C. aristate* [Sarikahya et al., 2014], *C. taurica* [Ozer et al., 2018], *C. balansae* [Top et al., 2017], *C. pastricensis* [Godevac et al., 2006].

Pareillement le motif partiel [**Glc-(1→3)-Rha-(1→2)-Ara-**] en C-3 a été aussi décrit chez des espèces de la famille Caprifoliaceae comme *Cephalaria davisiana* [Kayce et al., 2014], *C. aytachii* [Kayce and Kirmizigul, 2017], *Lonicera macranthoides* [Chen et al., 2012], *Tremastelma palaestinum* [Şenel et al., 2014] and *Weigela stelzneri* [Rezgui et al., 2016].

L'unité gentiobiose en C-28 trouvée dans les saponines isolées (**1-16**) a été observée aussi chez les Caprifoliaceae [Tian et al., 1993] et chez des espèces de *Scabiosa* à l'exception dans les saponines ;Scabiostellatoside H et palustroside III isolés à partir de *Scabiosa stellata* [Lehbili et al., 2018a] ou songorosides A et C isolés à partir de *S songarica* [Pinto et al., 2018] où elle été absente .

Par contre nous avons remarqué que les saponines isolés à partir de *S. songarica* avait le motif partiel [**-Rha-(1→3)-Xyl-**] et non pas le motif partiel [**-Rha-(1→2)-Xyl-**] en position C-3 de l'acide oléanolique [Pinto et al., 2018]. Donc il apparait difficile d'établir une séquence chimiotaxonomique pour ce genre.

En conclusion, nos travaux contribuent à la connaissance phytochimiques de l'espèce *S. semipapposa* associée à une signification chimiotaxonomique de *Scabiosa* spp. Par conséquent, nos résultats sont conformes à ces découvertes et apportent une contribution supplémentaire à la connaissance des saponines des espèces de *Scabiosa*. Ainsi confirmant la richesse en triterpénoïdes pentacycliques de ces espèces qui est observés par Pinto et al. (2018) avec la présence de l'acide oléanolique comme aglycone et du glucose, xylose, rhamnose et arabinose comme des unités osidiques.

III.1.2 Elucidation structurale des iridoïdes

En plus des seize saponosides précédemment décrits, l'étude phytochimique de l'extrait des racines a permis aussi d'isoler à partir des fractions **A** et **D** quatre iridoïdes avec des structures connus dont trois mono-iridoïdes (**Sp17-Sp19**) et un bis-iridoïde **Sp20**.

III.1.2.1 Détermination structurale du composé **Sp17**

➤ Analyse du spectre RMN 1D ^1H et ^{13}C

Le spectre RMN ^1H du composé **Sp17** (Figure III-86), montre d'emblée les signaux caractéristiques d'un secoiridoïde glycosyé. En effet, on observe :

- Un signal sous forme de doublet déblindé à $\delta_{\text{H}} 7,62$ ($d, J= 2,5\text{Hz}$) caractéristique du proton oléfinique H-3 dont le carbone est oxygéné
- Un signal intégrant pour un proton résonant à $\delta_{\text{H}} 5,58$ ppm sous forme d'un doublet fin attribuable au H-1 ($d, J=1,7$ Hz).
- Trois signaux de trois protons qui résonnes à : $\delta_{\text{H}} 5,57$ ppm ($dt, J=17,1-9,9$ Hz), $5,29$ ppm ($dd, J=10,3-1,7\text{Hz}$) et $5,33$ ppm ($dd, J=17,1-1,8\text{Hz}$) attestant la présence d'un système ABX d'une double liaison terminale ($\text{CH}=\text{CH}_2$).
- Un signal sous forme d'un doublet de doublet dédoublé de doublet de à $\delta_{\text{H}} 2,72$ ppm ($ddd, J= 9,6-5,5-1,4$ Hz) caractéristique du proton H-9.
- Deux signaux qui résonnes à : $\delta_{\text{H}} 1,72$ ppm ($ddd, J=13,5-12,7-4,3$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} 1,80$ m. caractéristiques de deux protons géminés H-6a,b.
- Un doublet à $4,70$ ppm ($J= 7,9$ Hz) caractéristique du proton anomère H-1' du sucre, en l'occurrence le glucose, dont les protons osidiques sont localisés dans la zone entre 3,1 et 4,0 ppm (Tableau III-14).

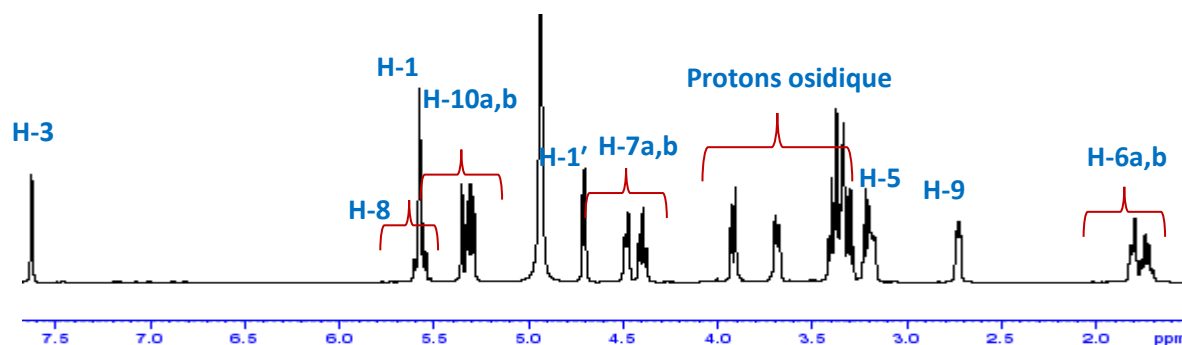


Figure III-86 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp17**.

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (Figure III-87) indique la présence de seize carbones dont dix sont attribués à la génine et six à l'unité osidique.

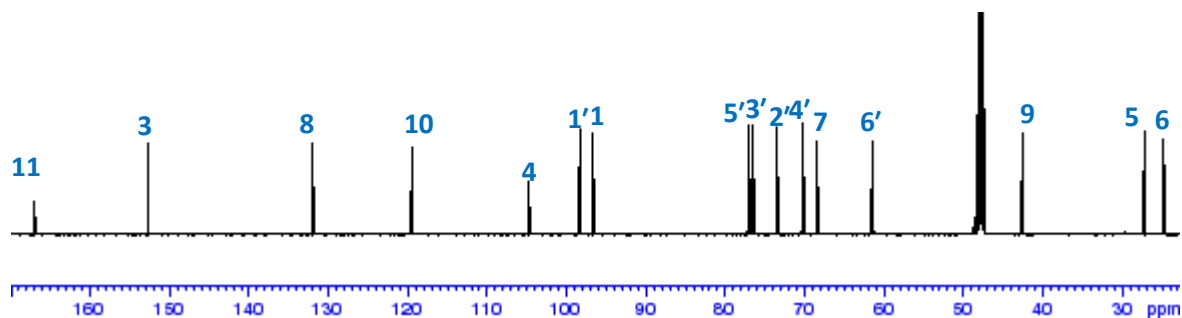


Figure III-87 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp17**.

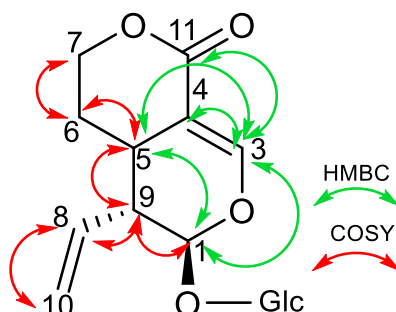
➤ Analyse des spectres RMN 2D

L'expérience de corrélation homonucléaire ou COSY H-H du composé **Sp17** (Figure III-88) montre des corrélations entre :

- Les protons géminés H-6a,b corrélient eux et avec les protons géminés H-7a,b à δ_{H} 4.39 et 4.48 ppm et aussi avec le proton H-5 (δ_{H} 3,18) qui couple à son tour avec le proton H-9 (δ_{H} 2,72), ce qui situe le carbone C-5 entre les carbones C-6 et C-9.

- En plus de sa corrélation avec le proton H-5, Le proton H-9 corréle aussi avec les protons H-1 (δ_{H} 5,58) et H-8 (δ_{H} 5,57) et ce dernier corréle avec les protons géminés H-10 (δ_{H} 5,29, 5,33) ces trois protons constituent le groupement vinylique accroché sur le carbone C-9.

- A partir du proton anomérique à 4,70 ppm (d, $J = 7,9$ Hz), l'expérience COSY (Figure III-88) permet de mettre en évidence la présence de sept protons d'un hexose: H-2' à δ_{H} 3.21 ppm (dd, $J=9,0-7,9$ Hz), H-3' à δ_{H} 3,39 ppm (t, $J=9,0$ Hz), H-4' à 3,29 ppm (dd, $J=9,0$ Hz), H-5' à δ_{H} 3,34, H-6'a,b à δ_{H} 3,68 ppm (dd, $J=12,0-6,0$ Hz) et 3,91 ppm (dd, $J=12,0-2,0$ Hz). Les constantes de couplage vicinales, mesurées à partir du spectre de RMN ^1H sont toutes supérieures à 7 Hz, ce qui indique qu'ils sont tous trans-diaxiaux. Ceci est caractéristique d'un β -D-glucopyranose.



Corrélations COSY et HMBC du composé **Sp17**

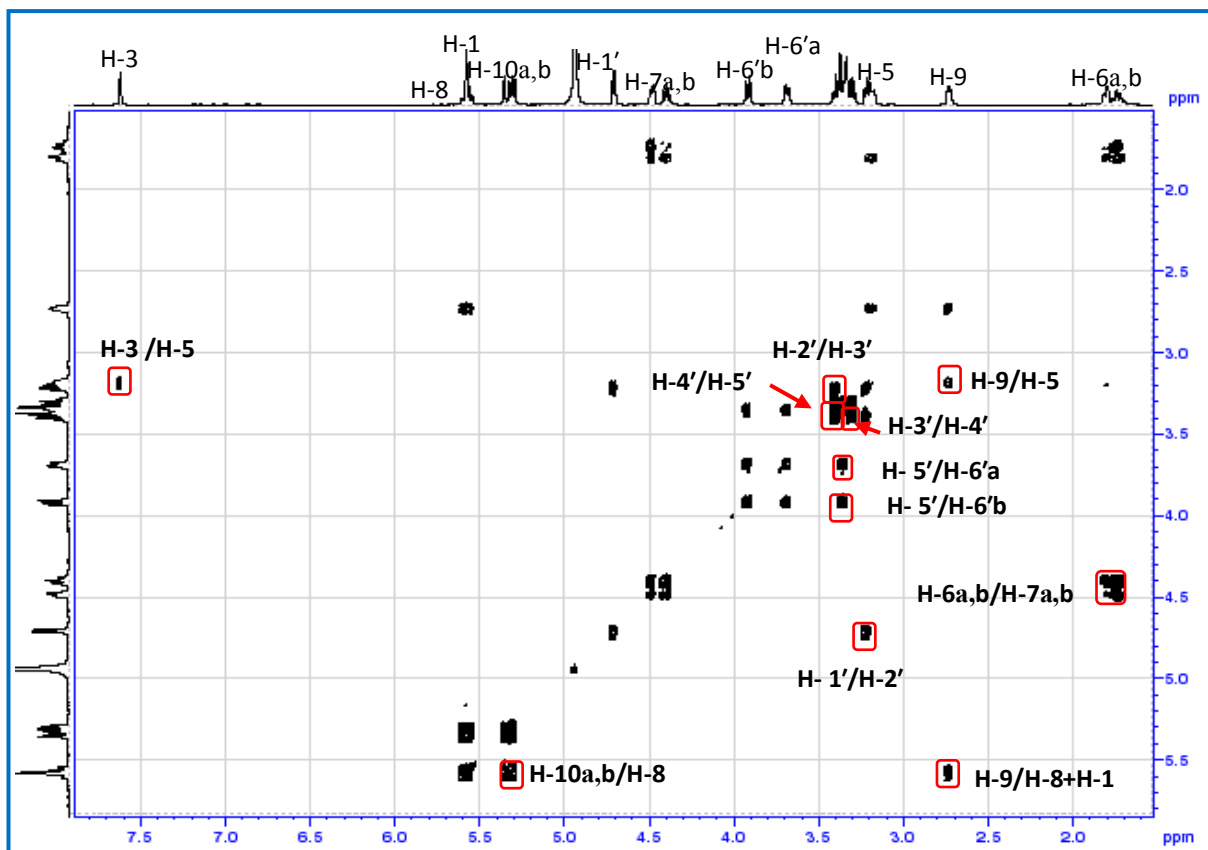


Figure III-88: Spectre COSY du composé **Sp17**.

L'expérience HSQC (Figure III-89) a permis d'attribuer les carbones protonés de la génine C-5, C-6, C-7, C-8, C-9 et C-10 à δ_C 27,0, 24,5, 68,3, 131,9, 42,4 et 119,4 respectivement et les carbones osidiques C-1', C-2', C-3', C-4', C-5' et C-6' (Tableau III-14).

La structure complète du composé **sp17** est établie après l'analyse du spectre HMBC (Figure III-90) qui nous permet de localiser les carbones quaternaires et de relier toute les parties identifiés :

- Le proton H-9 donne des corrélations avec les carbones C-5, C-1, C-4, C-8 et C-10. De même le proton H-8 corrèle en HMBC avec les carbones C-9, C-1 et C-10, confirmant ainsi la structure vinylique.
- Le proton H-3 (δ_H 7,62) corrèle en HMBC avec les carbones C-4, C-5, C-1 et le carbonyle d'ester à 167,1 ppm (C-11).
- Le proton H-1 corrèle avec les carbones C-5, C-8 et C-3. La constante de couplage $^3J_{H-C}$ entre H-3/C-1 ou H-1/C-3 se fait à travers un oxygène et confirme la structure hétérocyclique du ce composé.
- Les protons géminés H-6a,b présentes des corrélations avec les carbones C-5, C-9, C-7, et C-4.
- Le proton H-1 corrèle également avec le carbone C-1' du glucose ce qui nous permet de fixer le sucre sur l'hydroxyle en position 1 de la génine.

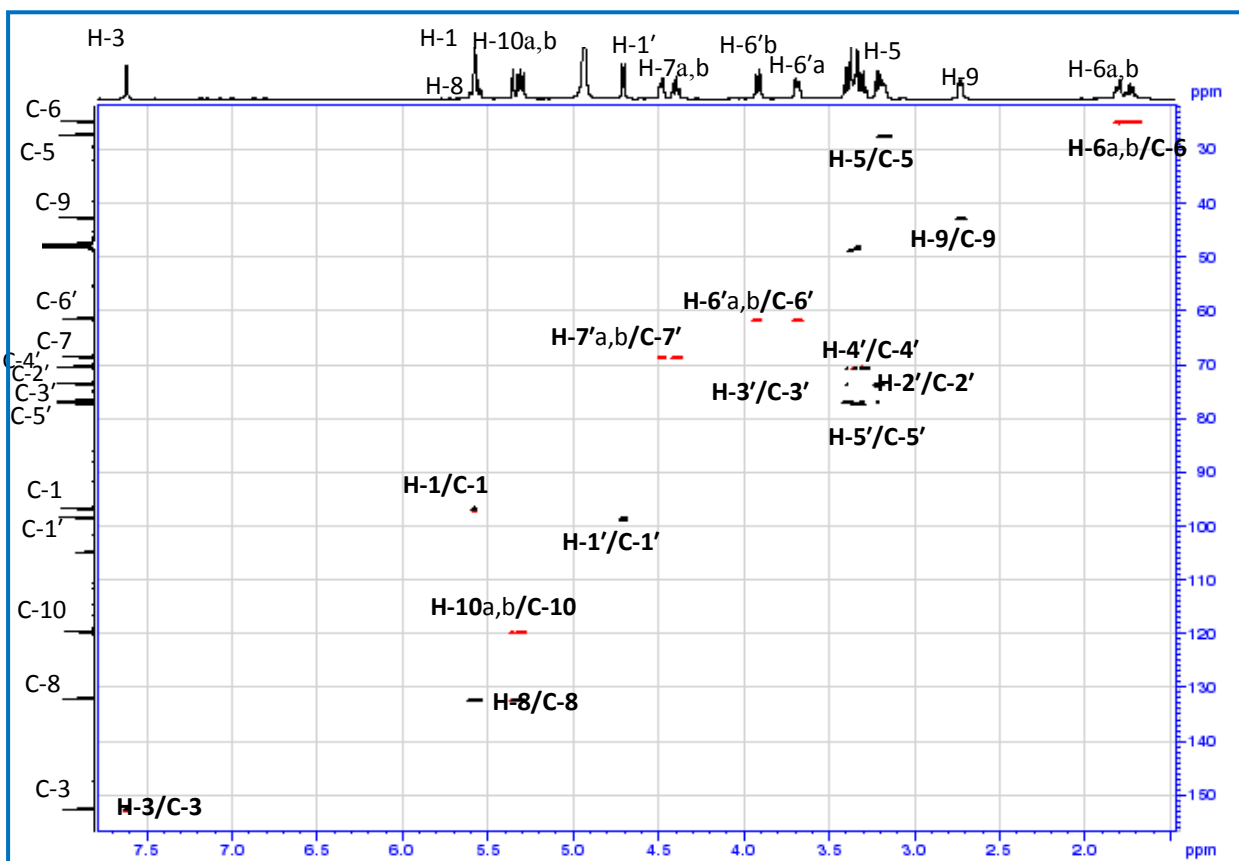


Figure III-89 : Spectre HSQC du composé Sp17.

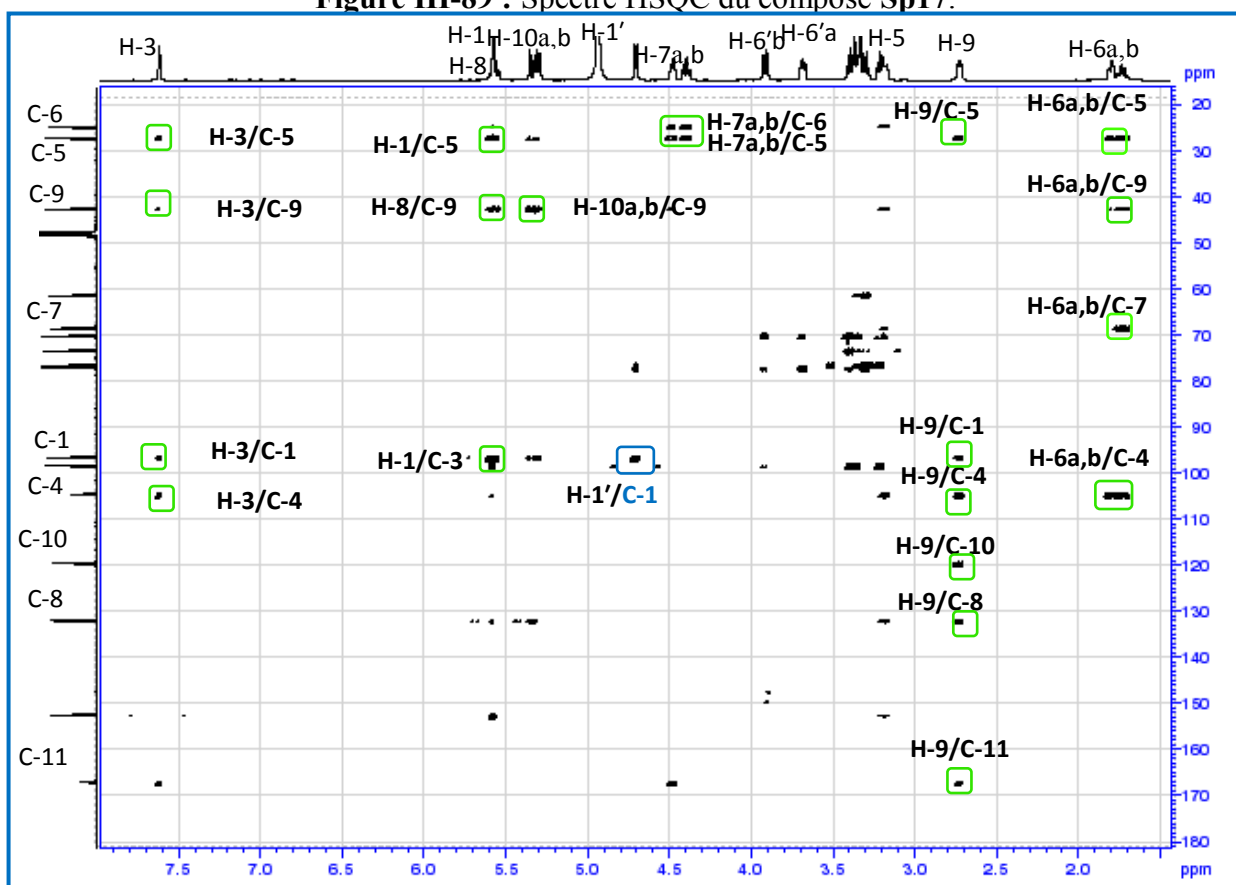
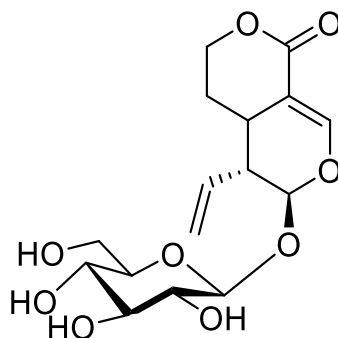


Figure III-90 : Spectre HMBC du composé Sp17.

Toutes ces données spectrales en comparaison avec celles de la littérature [Jensen et al., 1979] permet d'attribuer la structure du **Sweroside** au composé **Sp17** précédemment isolé de *Scabiosa variifolia* [Papalexandrou et al.,2003] et *Scabiosa stellata* [Lehbili et al.,2018] considéré comme un marqueur chimiotaxonomique de la famille Dipsacaceae.[Jensen et al., 1979 ; Perdetzoglou et al., 1994 ;Graikou ., 1999 ; Horn et al., 2001].



Sp17 :Sweroside

Tableau III-14 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **Sp17** dans CD_3OD .

Position	Composé Sp17	
	δ_{C}	δ_{H} m (<i>J</i> en Hz)
1	96,5	5,58 d (1,7)
3	152,5	7,62 d (2,5)
4	104,6	-
5	27,0	3,18 m
6	24,5	1,72 ddd (13,5-12,7-4,3) 1,80 m
7	68,3	4,39 td (11,3-2,4) 4,48 ddd (11,1-4,2-2,1)
8	131,9	5,57 dt (17,1-9,9)
9	42,4	2,72 ddd (9,6-5,5-1,4)
10	119,4	5,29 dd (10,3-1,7) 5,33 dd (17,1-1,8)
11	167,1	-
Glc		
1'	98,2	4,70 d (7,9)
2'	73,3	3,21 dd (9,0-7,9)
3'	76,4	3,39 t (9,0)
4'	70,1	3,29 dd (9,6-8,9)
5'	76,9	3,34 m
6'	61,2	3,68 dd (12,0-6,0) 3,91 dd (12,0-2,2)

III.1.2.2 Détermination structurale des composés Sp18 et Sp19

L'observation du spectre RMN ^1H (Figure III-91) du composé Sp18 permet de confirmer sa nature iridoïdique, par la présence de certains signaux caractéristiques. En effet, on observe :

- Un signal d'un proton résonant sous forme d'un doublet à δ_{H} 7,41 ppm attribuable au proton oléfinique H-3
- Un signal d'un groupement méthyle a δ_{H} 1,12 ppm (d, $J = 6,9$ Hz) attribuable au CH_3 -10b.
- Un singulet intense intégrant pour trois protons résonant à δ_{H} 3,70 ppm caractéristique d'un méthyle d'une fonction méthoxycarbone.
- Un signal d'un proton résonant sous forme d'un doublet a δ_{H} δ_{H} 5,29 ppm attribuable au proton H-1b.
- Les protons d'un hexose (entre 3,20 et 3,95 ppm) dont son proton anomérique résonne à δ_{H} 4,66 ppm (d, $J = 8,0$ Hz).
-

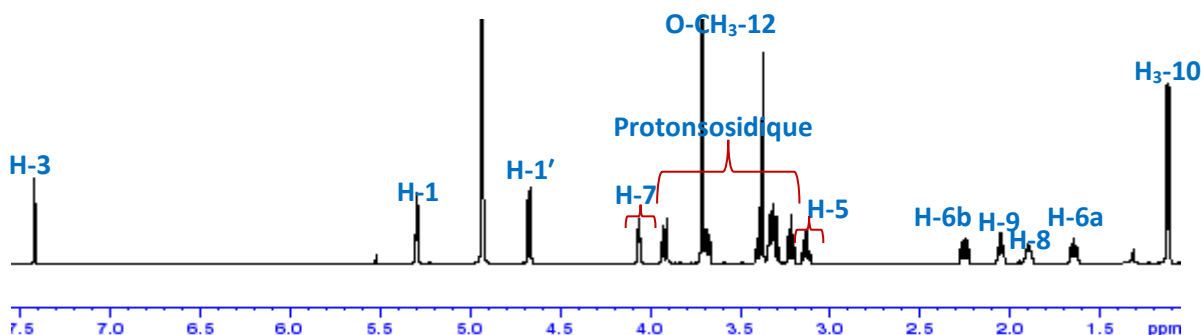


Figure III-91 : Spectre RMN ^1H du composé Sp18.

Sur le spectre RMN ^{13}C du composé Sp18 (Figure III-92) nous observons 17 carbones dont 6 sont assignés à la partie glucidique et 11 à la partie aglycone :

- Un signal blindé à δ_{C} 168,1 ppm correspond au carbonyle a la position 11.
- Un carbone éthylénique attribuable au C-3 résonne à δ_{C} 150,7 ppm.
- Un signal situé à δ_{C} 96,3 ppm attribuable au C-1.
- Un carbone anomérique localisé à δ_{C} 98,6 ppm.
- Un carbone du groupement méthyle CH_3 -10 localisé à δ_{C} 12,1 ppm.

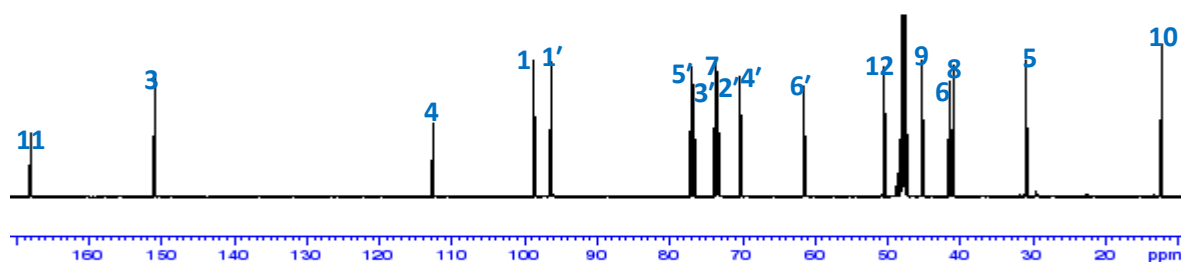


Figure III-92: Spectre RMN ^{13}C du composé Sp18.

Au moyen des corrélations bidimensionnelles COSY H-H (Figure III-93) l'identification des autres protons de l'aglycone a été effectuée :

- A partir des protons H₃-10 le proton H-8 est localisé à 1,89 ppm, qui est à son tour donne des corrélations avec les protons situés à $\delta_{\text{H}} 2.04$ ppm (*td*, $J = 9,2-4,5$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} 4,05$ ppm (*t*, $J = 4,3$ Hz) attribuables au H-9 et H-7 respectivement.
- le proton H-9 corrèle avec le proton H-1 à $\delta_{\text{H}} 5,29$ ppm (*d*, $J = 4,6$ Hz) et H-5 à $\delta_{\text{H}} 3,12$ ppm (*dd*, $J = 16,2-8,0$ Hz). Ce dernier corrèle avec les deux protons géminés H-6 a,b situés à $\delta_{\text{H}} 1,64$ et $2,24$ ppm, qui présentent eux même une autre corrélation avec le proton H-7.
- Le spectre COSY permet également d'identifier les protons osidiques à partir du proton anomérique H-1' situé à 4,66 ppm (*dd*, $J = 8,0$ Hz). Les grandes valeurs de constantes de couplages, indiquent que ces protons sont axiaux. Il s'agit donc β -D-glucose (Tableau III-15).

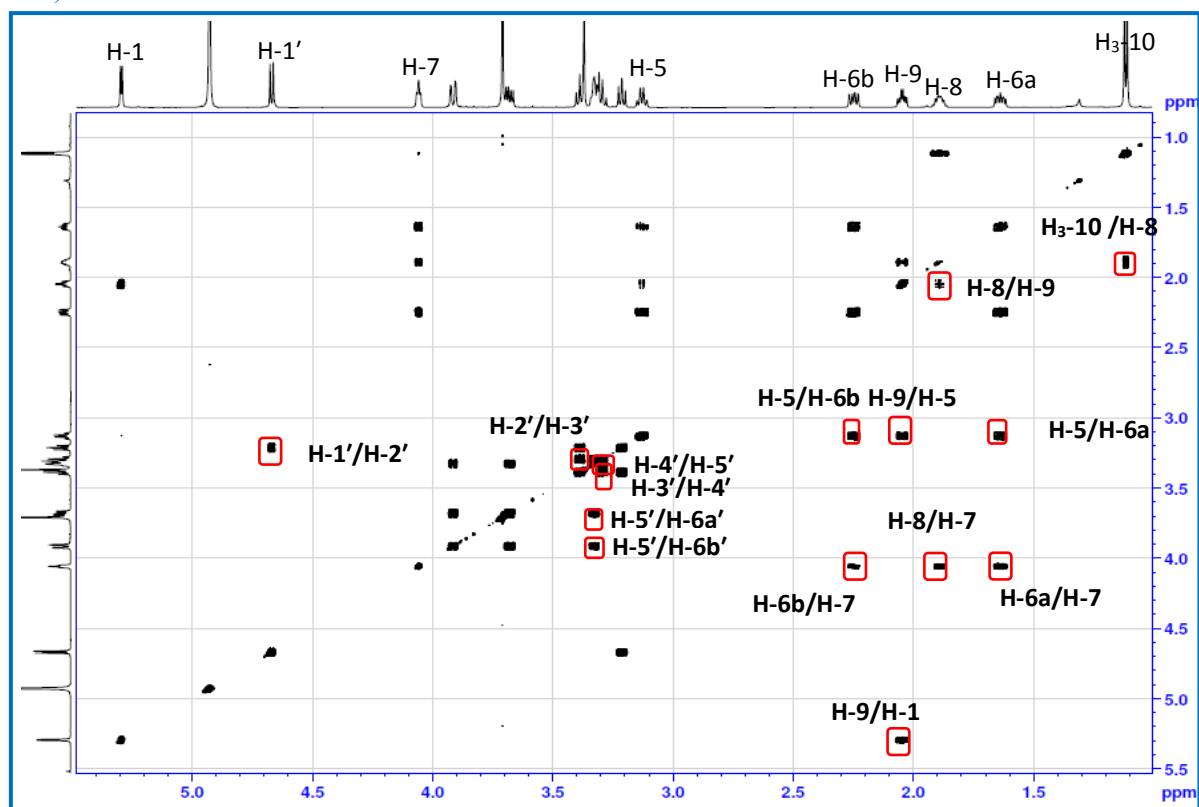


Figure III-93 : Spectre COSY du composé Sp18.

Sur le spectre HSQC *J*-modulé (Figure III-94) sont attribués tous les carbones des protons déjà identifiés.

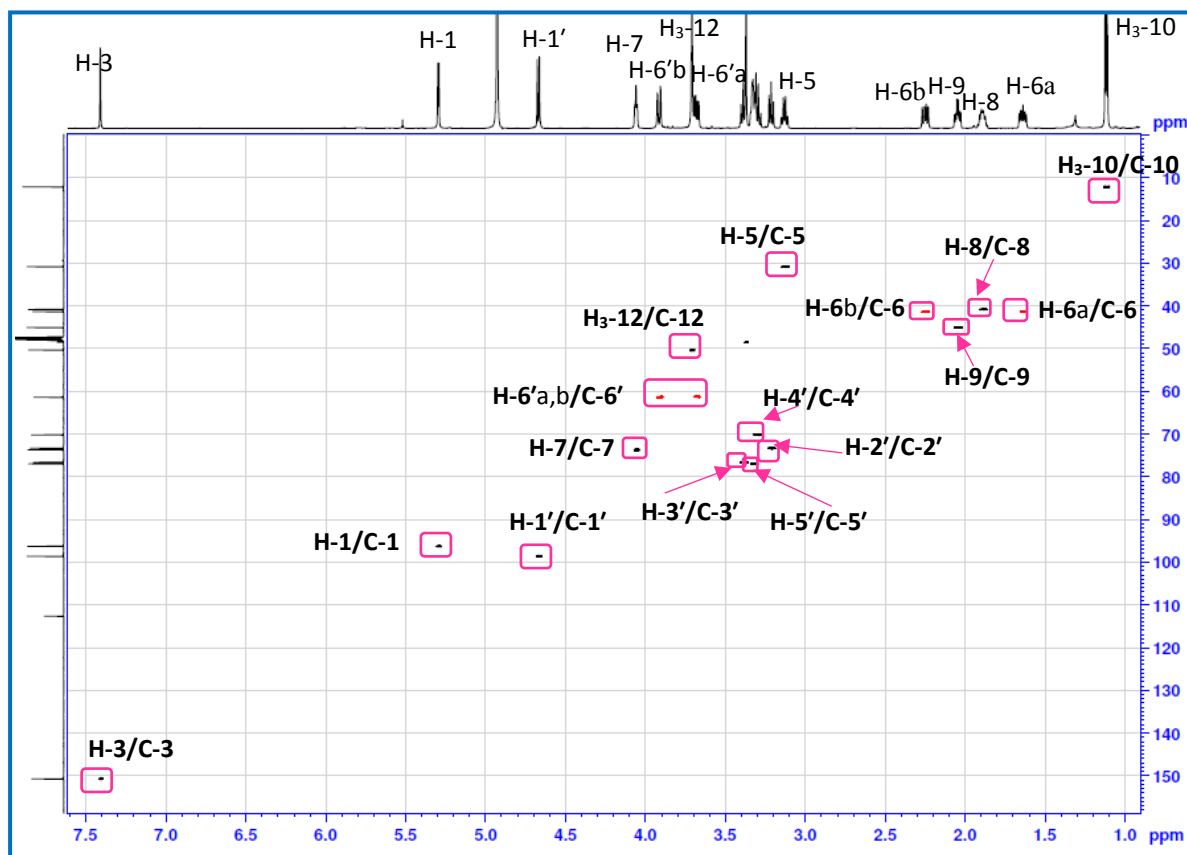
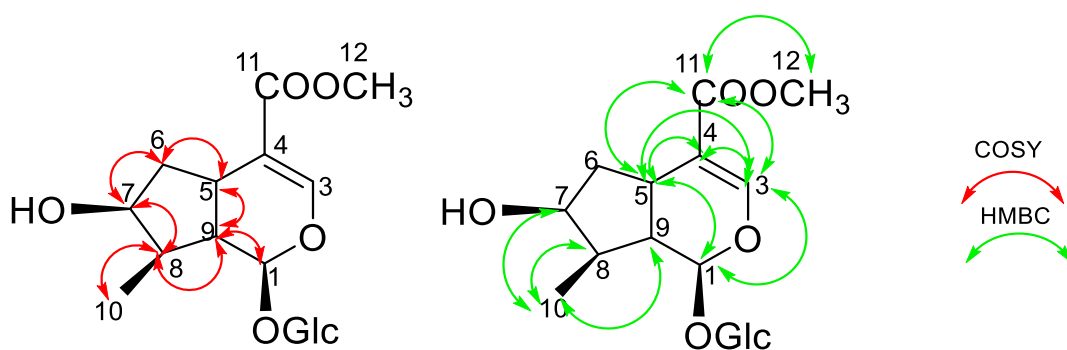


Figure III-94 : Spectre HSQC du composé Sp18.



Corrélation COSY et HMBC du composé Sp18

L'analyse de l'expérience HMBC (Figure III-95) a permis de compléter et de confirmer la structure du composé **sp18** d'après les corrélations observées :

- Entre les protons H₃-10 et les carbones précédemment localisés sur le spectre HSQC ; C-8 (δ_c 40,8), C-9 (δ_c 45,0), et C-7 (δ_c 73,7).
- Entre le proton H-1 et les carbones C-5 (δ_c 30,8), et C-3 (δ_c 150,7).

- Entre le proton H-5 et les carbones C-9, C-6 (δ_C 41,3), le carbone quaternaire C-4 (δ_C 113,6), C-1 (δ_C 96,3), C-3 (δ_C 150,7) et C-7 (δ_C 73,7)
- Entre le proton éthylénique H-3 et le carbone C-5, C-1, le carbone quaternaire C-4 (δ_C 113,6) et le carbonyle d'ester C-11 à δ_C 168,1 ppm.
- Entre les protons H₃-12 de la fonction méthoxycarbone et les carbones C-11 et C-4.

Une autre corrélation est observée entre le proton H-1 et le carbone C-1' qui permet de fixer le glucose sur l'aglycone en position 1.

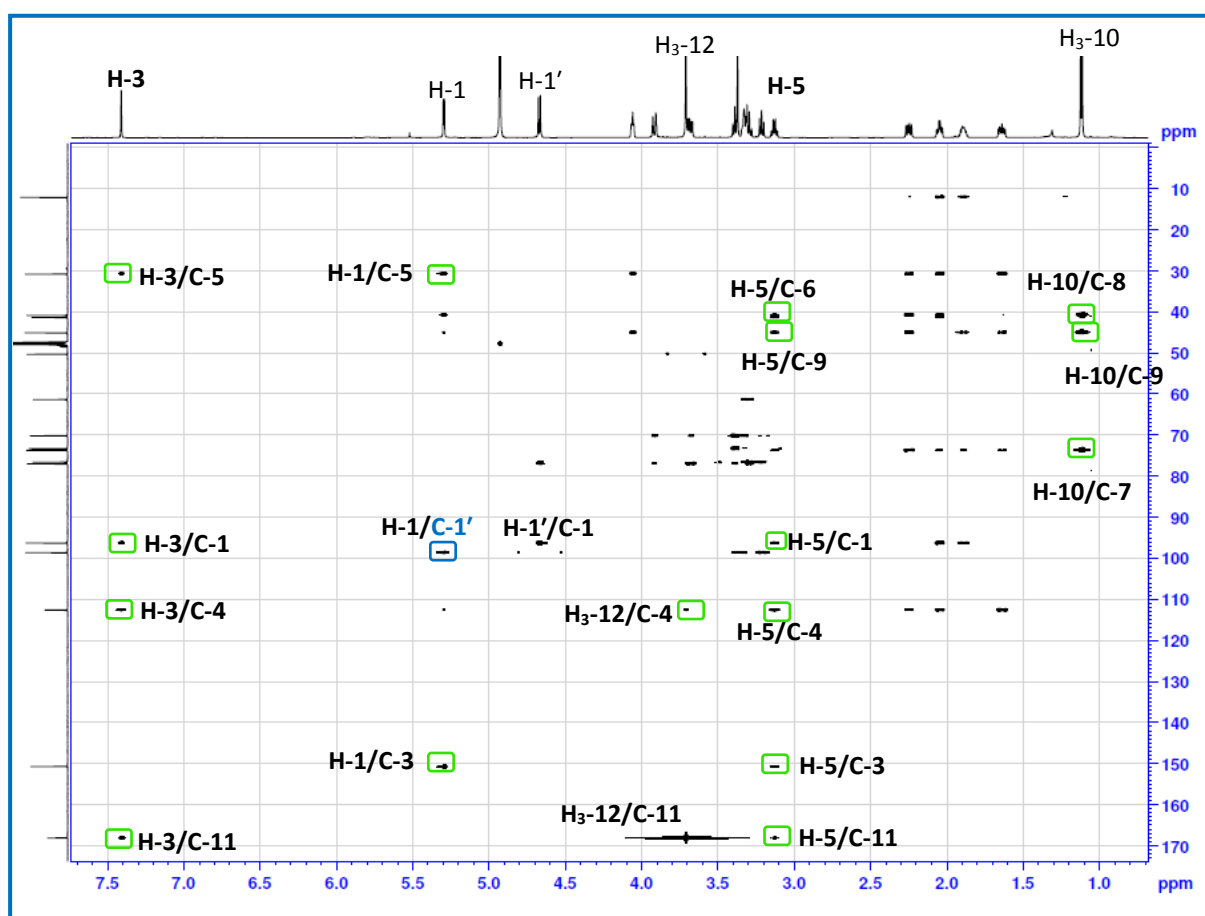
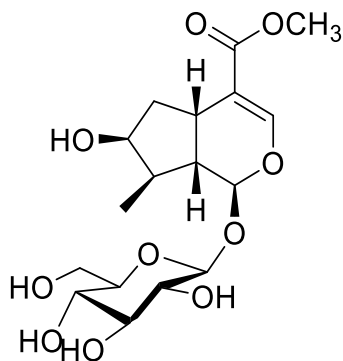


Figure III-95 : Spectre HMBC du composé **Sp18**.

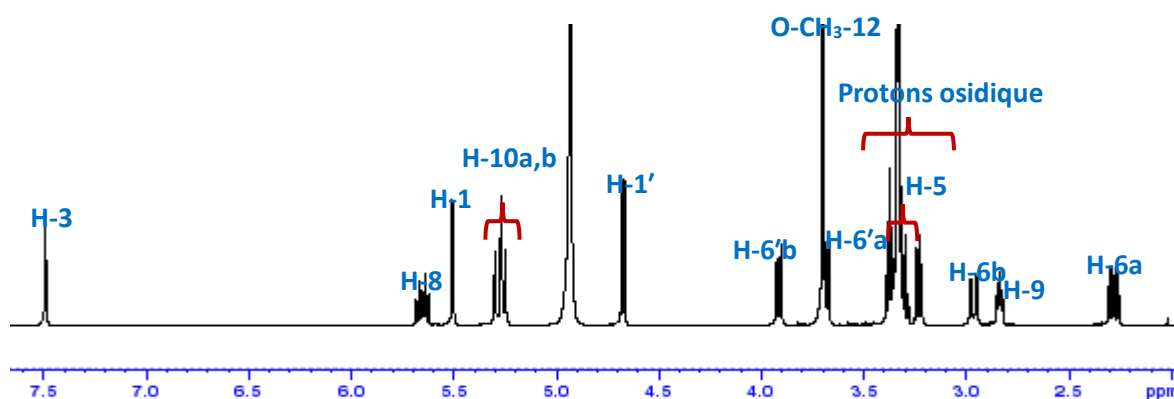
L'ensemble des corrélations et les déplacements chimiques comparés avec ceux de la littérature nous ont permis d'établir que le composé **Sp18** était le **Loganine** isolé précédemment à partir de *Lonicera periclymenum* L. (Caprifoliaceae) [Calis et al., 1984a].



Sp18 : Loganine

Le composé **Sp19** présente des spectres RMN ^1H et ^{13}C (Figure III-96, III-97) presque identiques à ceux du **Sp18** à part la disparition du signal résonant pour le groupement méthyle H₃-10 et la présence de trois protons déblindés résonants à $\delta_{\text{H}}5,65$ ppm (*dt*, $J=17,1-10,5$ Hz, H-8) et [5,25 ppm (*dd*, $J=10,5-1,8$ Hz), 5,28 ppm (*dd*, $J=17,1-1,6$ Hz), H₂-10] (Tableau III-15). Le couplage du proton à $\delta_{\text{H}} 5,65$ ppm avec les deux autres indiquant la présence d'une double liaison terminale (CH=CH₂) caractéristique d'un secoxyloganine. Ces trois protons sont assignés au H-8 et H-10a,b dont les carbones éthylénique résonnent à $\delta_{\text{C}}133,1$ et $119,2$ ppm respectivement.

Sur le spectre RMN ^{13}C nous observons en plus du carbonyle à $\delta_{\text{C}}167,4$ ppm (C-11) lié au groupement ester carboxylique, un deuxième carbone déblindé à $\delta_{\text{C}}174,8$ ppm révèle la présence d'une fonction acide carboxylique.

Figure III-96 : Spectre RMN ^1H du composé Sp19.

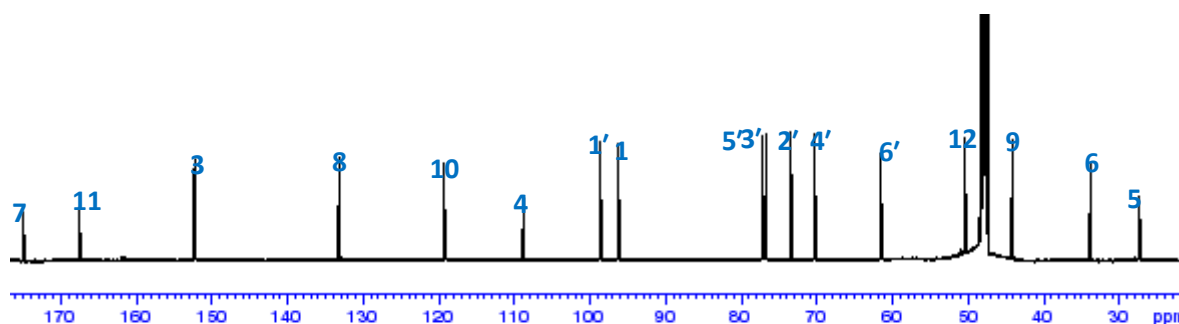
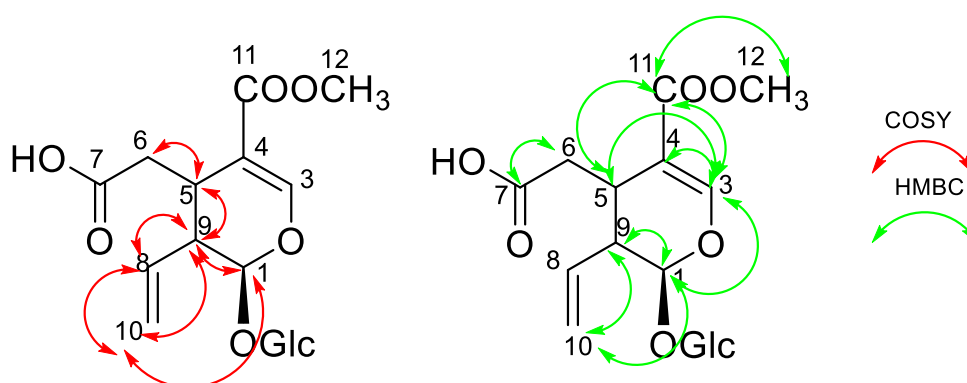


Figure III-97 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp19**.

L'analyse des spectres RMN 2D COSY, HSQC et HMBC permet de confirmer les constatations déduites précédemment.

- Le proton H-9 sur le spectre COSY (Figure III-98) corrèle en plus du proton H-5 avec les protons H-1 ($\delta_{\text{H}} 5,50$) et H-8 ($\delta_{\text{H}} 5,65$) et ce dernier donne des corrélations avec les protons géminés H-10 a,b . Sur le spectre HMBC (Figure III-99) le Proton H-9 présente des corrélations avec les carbones C-5 ($\delta_{\text{C}} 27,1$) , C-1 ($\delta_{\text{C}} 96,1$), C-4, C-10($\delta_{\text{C}} 119,2$) et C-8 ($\delta_{\text{C}} 133,1$) et les protons H-10 corrélient en HMBC avec les carbones C-9, C-1 et C-8.
- Les deux protons géminés H-6 a,b sont localisés à 2,28 et 2,96 ppm sur le spectre COSY d'après leurs corrélations avec le proton H-5. En HMBC les protons H-6 corrélient avec le carbonyle à ($\delta_{\text{C}} 73,7$) attribuable au C-7.
- Également nous observons d'autres corrélations entre le proton éthylénique H-3 et les carbones C-4 et C-11 ($\delta_{\text{C}} 167,4$), et entre le proton H-1 et C-1' du glucose qui permet de déduire sa fixation sur le secoxyloganine en position 1.



Corrélations COSY et HMBC du composé **Sp19**.

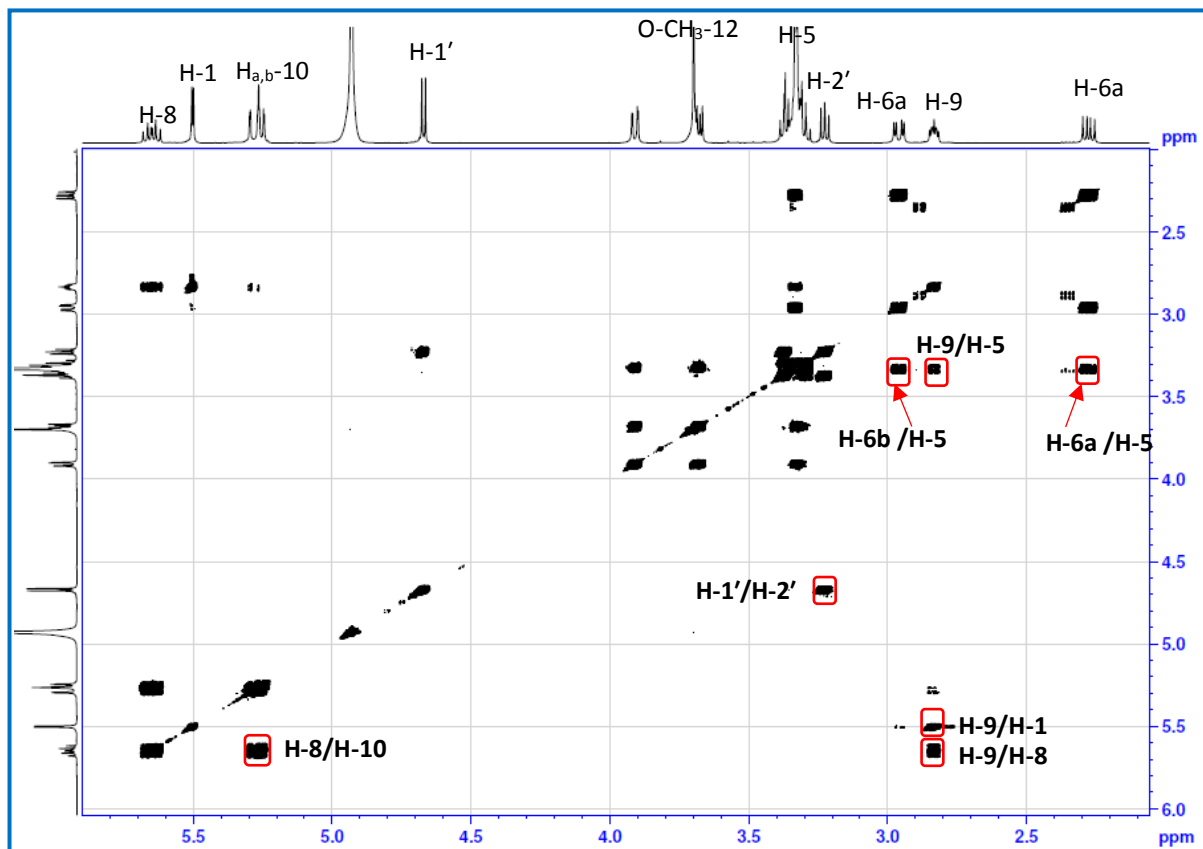


Figure III-98 : Spectre COSY du composé Sp19.

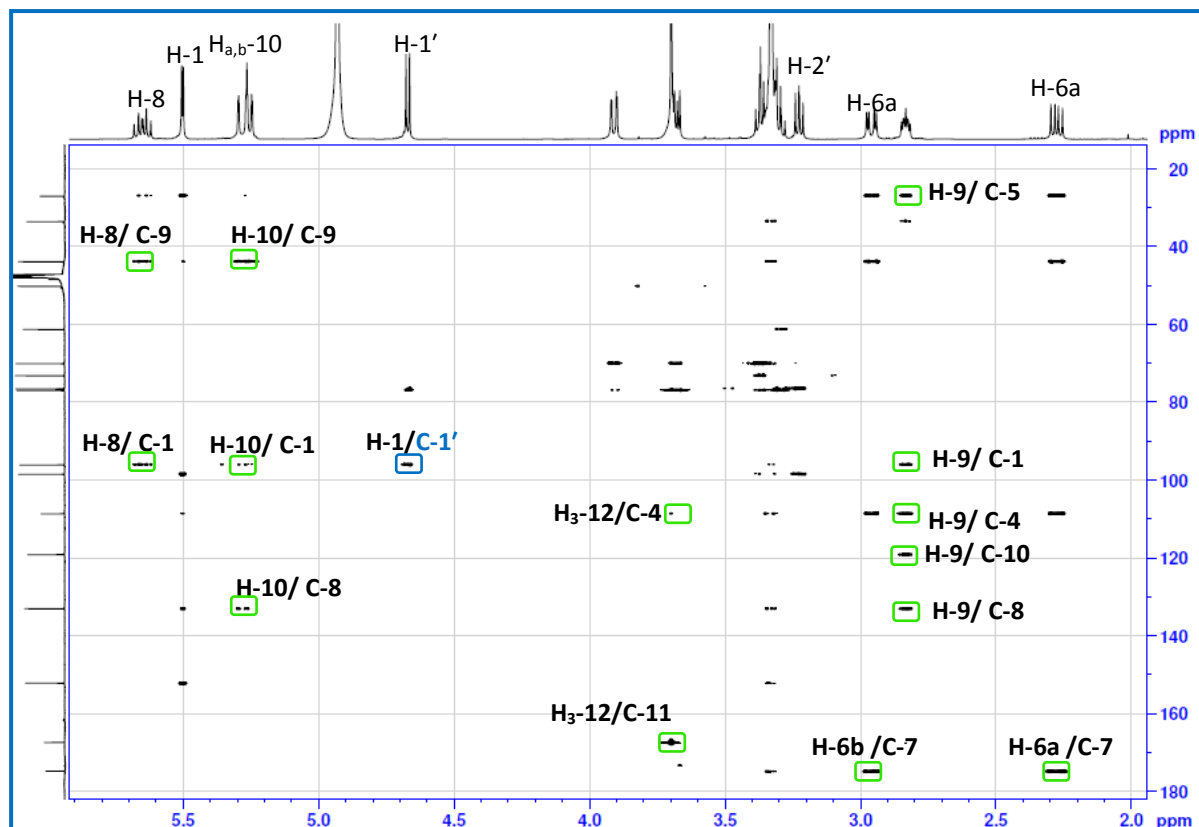
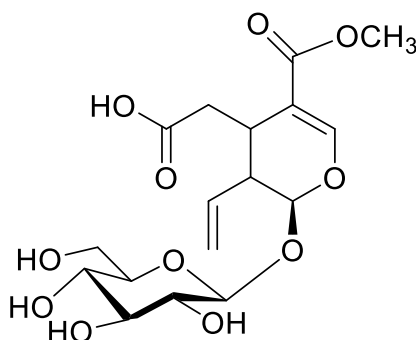


Figure III-99 : Spectre HMBC du composé Sp19.

Cette analyse spectrale a permis d'attribuer tous les protons et les carbones constituant cette molécule. Leurs déplacements chimiques sont identiques à ceux de **Secoxyloganine** isolé précédemment à partir des tiges de *Lonicera periclymenum* (Caprifoliaceae) [Calis et sticher, 1984 b].



Sp19 : Secoxyloganine

Tableau III-15 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés **Sp18**, **Sp19** dans CD_3OD .

Position	Composé Sp18		Composé Sp19	
	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)
1	96,3	5,29 d (4,6)	96,1	5,50 d (3,8)
3	150,7	7,41 d (1,0)	152,2	7,49 d (1,8)
4	113,6	-	108,7	-
5	30,8	3,12 dd (16,2-8,0)	27,1	3,33 m
6	41,3	1,64 ddd (14,0-8,0-4,9) 2,24 ddd (14,0-8,0-1,3)	33,6	2,96 dd (16,6-5,0) 2,28 dd (16,6-9,1)
7	73,7	4,05 t (4,3)	174,8	-
8	40,8	1,89 m	133,1	5.65 d t (17.1-10.5)
9	45,0	2,04 td (9,2-4,5)	43,9	2.83 ddd (9.5-5.4-4.0)
10	12,1	1,12 d (6,9)	119,2	5.25 dd (10.5-1.8) 5.28 dd (17.1-1.6)
11	168,1	-	167,4	-
COOCH₃	50,2	3,70 s	50,2	3.70 s
Glc				
1'	98,6	4,66 d (8,0)	98,5	4,67 d (7,8)
2'	73,3	3,21 dd (9,2-8,0)	73,2	3,23 dd (9,2-7,8)
3'	76,6	3,38 t (8,7)	76,5	3,37 t (9,0)
4'	70,2	3,29 dd (9,6-8,7)	70,1	3,30 dd (9,6-9,0)
5'	77,0	3,32 m	77,0	3,32 m
6'	61,3	3,67 dd (11,9-5,9) 3,91 d (11,9-1,8)	61,3	3,68 dd (11,9-5,4) 3,91 dd (11,9-1,9)

III.1.2.3 Détermination structurale du composé Sp20

L'analyse des spectres RMN 1D et 2D du composé **Sp20** a montré l'existence des signaux correspondants à un bis-iridoïde, dimère formé de deux unités **A** et **B** (secoiridoïde/ iridoïde) liées par une liaison ester.

❖ Identification de l'unité B

En comparaison avec les spectres (Figure III-91, III-92) de **Sp18**, l'unité B (partie iridoïde) présente tous les signaux caractéristiques d'un loganine cités précédemment. (Tableau III-16).

❖ Identification de l'unité A

Le spectre de RMN ¹H de **Sp20** (Figure III-100) indique la présence des signaux de secoxyloganine (**Sp19**) caractérisé par :

- La présence de trois protons d'une double liaison terminale (CH=CH₂) résonnants à δ_H 5,77 (*ddd*, 17,3-10,2-9,1), 5,28 (*dd*, 10,2-1,2) et 5,33 (*dd*, 17,3-10,7), assigne aux protons H-8a et H₂-10a. Caractéristique d'une double liaison terminale (CH=CH₂).
- Un fin doublet à δ_H 7,47 ppm (*J*=0,8 Hz) indiquant la présence d'un proton éthylénique dont le carbone est oxygéné attribuable au H-3a.
- Un doublet de doublet dédoublé à δ_H 2,71 (*dt*, 8,8-5,5) intégrant pour un proton attribuable au H-9a
- Un singulet intense intégrant pour trois protons à δ_H 3,31 ppm.

La différence notable entre le **Sp19** et **Sp20** et consiste en la présence de deux groupements méthoxy (OCH₃) résonnants à δ_H 3,31 ppm formants un diméthyle acétal remplaçant la fonction acide carboxylique en position 7 traduit par le signal du carbone C-7 qui apparaissant à δ_C 103,8 au lieu 174,8 ppm.

Sur le spectre RMN ¹H nous observant également deux protons anomériques H-1' à δ_H 4,68 et H-1'' à δ_H 4,70 ppm.

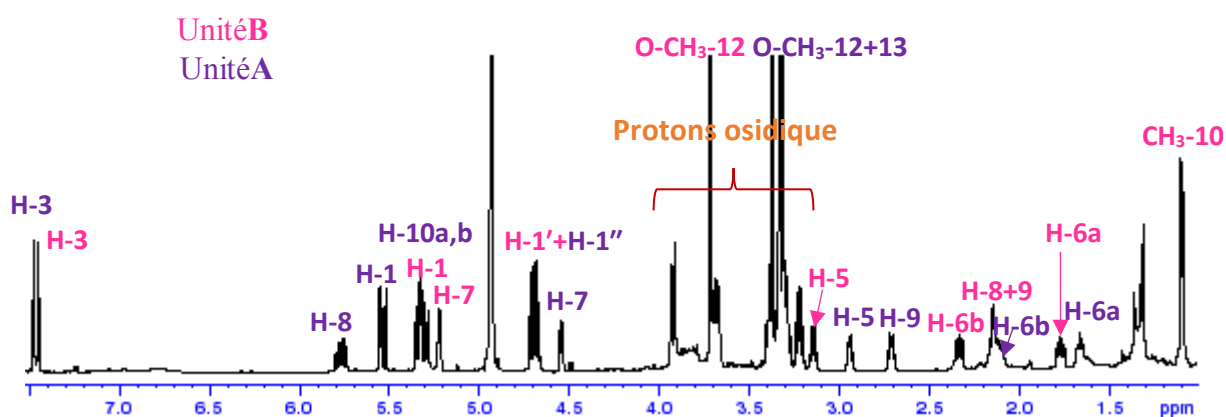


Figure III-100 : Spectre RMN ¹H du composé **Sp20**.

Sur le spectre ^{13}C (Figure III-101) nous distinguons :

- Deux signaux blindés à δ_{C} 167,9 et 166,8 ppm attribuables aux carbonyles situés aux positions 11.
- Deux carbones éthyléniques en position 3 résonnants à δ_{C} 151,1 et 151,8 ppm.
- Deux signaux situés à δ_{C} 96,0 et 96,4 ppm attribuables aux positions 1.
- Deux carbones anomériques C-1' et C-1'' localisés à δ_{C} 98,7 et 98,6 ppm.
- Un carbone du groupement méthyle CH_3 -10 localisé à δ_{C} 12,2 ppm.

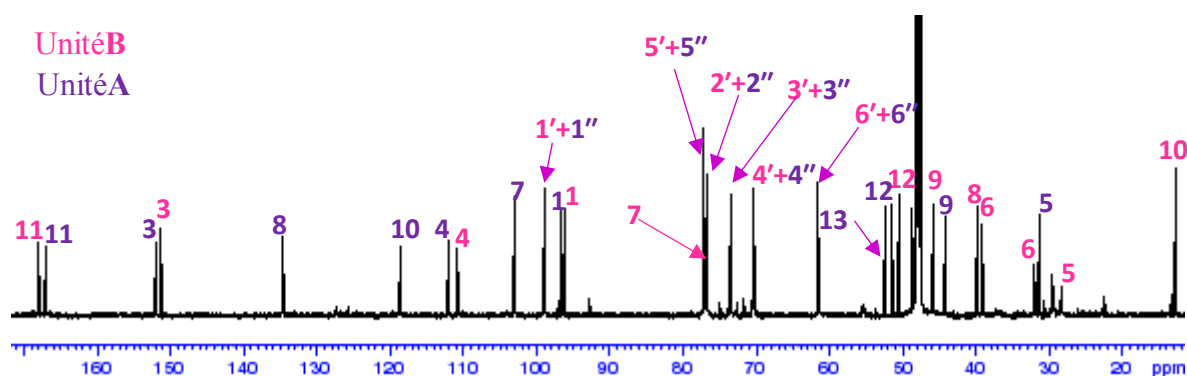


Figure III-101 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp20**.

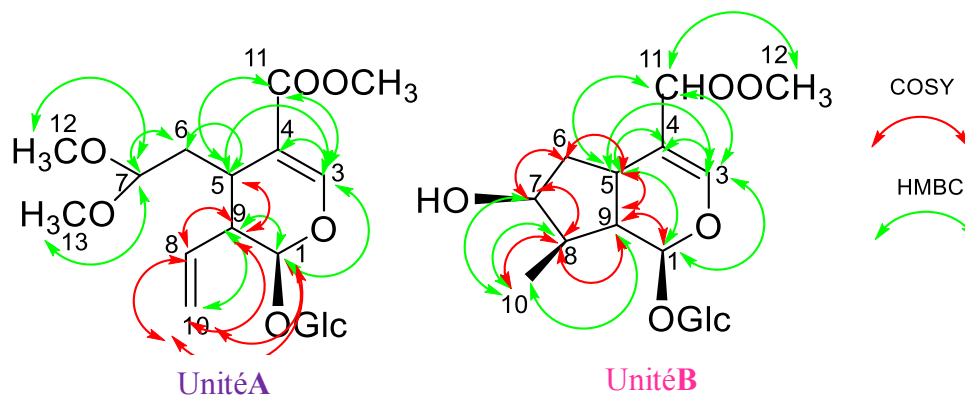
Les expériences COSY, HSQC et HMBS nous ont permis de confirmer les attributions précédentes et de caractériser chaque unité d'après les corrélations appropriées observées.

En commençant par la partie iridoïde (unité **B**), les expériences COSY et HMBC (Figure III-102, III-103) présentent les mêmes corrélations observées pour le composé **Sp18**.

Concernant la deuxième partie (unité **A**) en plus des corrélations observés pour le secoxyloganine (composé **Sp19**), le spectre HMBC montre un couplage $^3J_{\text{C-H}}$ entre le carbone C-7 et les protons des groupements méthoxy (OCH_3) à δ_{H} 3.31 ppm confirmant la localisation d'un diméthyle acétal en cette position.

Le spectre HMBS montre également des corrélations entre les protons anomériques H-1' et H-1'' avec les carbones C-1_B et C-1_A des unités B et A.

Toutes ces données spectrales ainsi que les valeurs des déplacements chimiques ont permis de proposer sans ambiguïté, la structure de secoxyloganine diméthyle acétal pour la partie A de ce bis-iridoïde



Corrélations COSY et HMBC du composé Sp20

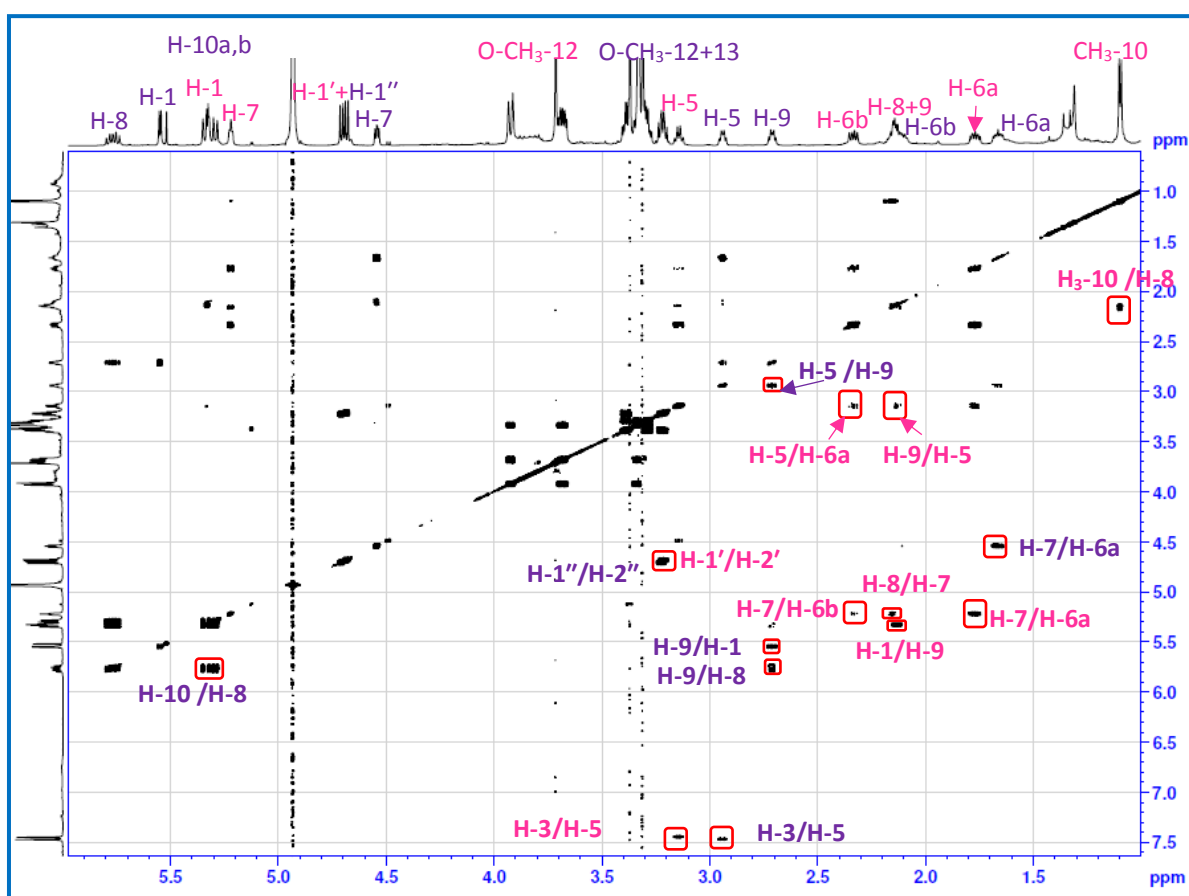


Figure III-102 : Spectre COSY du composé Sp20.

Le déplacement chimique du carbone du C-7b à δ_c 76,9 ppm suggère qu'il est impliquée dans une liaison ester qui relie les deux parties A et B de ce composé. Ceci est confirmé par la corrélation observée entre C-11a et H-7b sur le spectre HMBC (Figure III-103).

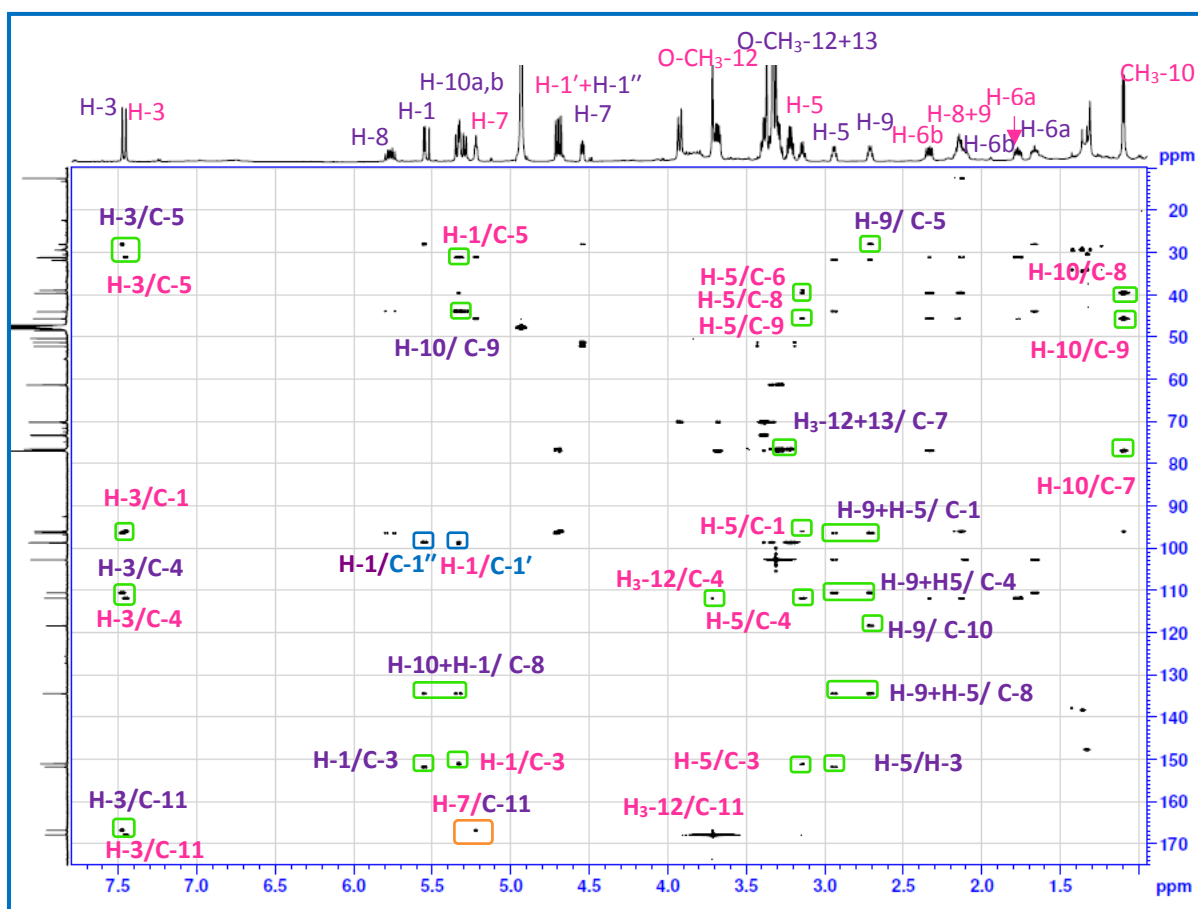
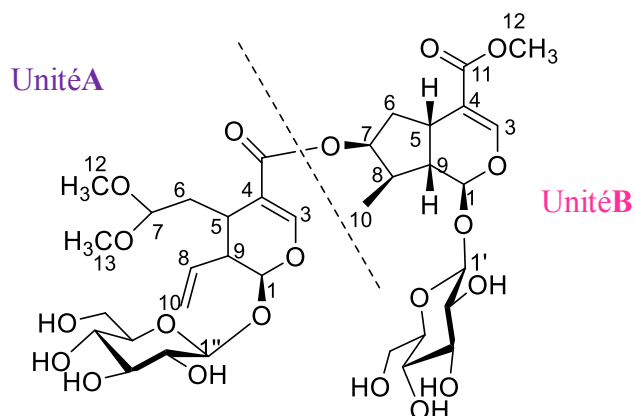


Figure III-103 : Spectre HMBC du composé **Sp20**.

Tous les déplacements chimiques des protons et carbones (Tableau III-16) déterminés conjointement par les expériences COSY, HSQC et HMBC permettent d'identifier le composé **Sp20** au **Cantleyoside diméthyle acétal (Triplotoside A)**. Isolé pour la première fois à partir du genre *Scabiosa* et qui a précédemment été identifié dans les parties aériennes des deux espèces *Ptercephalus perennis subsp.perennis* et de *Ptercephalus pinardii*(Dipsacaceae) [Graikou, et al .,2002, Gülcemal et al.,2010].



Sp 20 Cantleyoside diméthyl acétal= Triplotoside

Tableau III-16 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **Sp20** dans CD_3OD .

Composé Sp20					
Position	Unité B (Loganine)			Unité A (Secologanine)	
	δ_{C}	δ_{H} m (J en Hz)		δ_{C}	δ_{H} m (J en Hz)
1	96,0	5,33 d (4,4)		96,4	5,55 d (5,5)
3	151,1	7,45 d (1,0)		151,8	7,47 d (0,8)
4	111,8	-		110,6	-
5	31,1	3,14 q (7,8)		28,0	2,94 dt (7,3-5,6)
6	38,9	1,77 ddd (14,6-7,8-5,2) 2,33 ddd (14,6-7,8-1,3)		31,8	1,66 ddd (14,1-8,1-4,5) 2,10 dd (14,1-8,1)
7	76,9	5,22 t (4,3)		103,8	4,54 dd (7,1-4,6)
8	39,6	2,15 m		134,5	5,77 ddd (17,3-10,2-9,1)
9	45,7	2,13 m		43,9	2,71 dt (8,8-5,5)
10	12,2	1,10 d (6,5)		118,4	5,28 dd (10,2-1,2) 5,33 dd (17,3-10,7)
11	167,9	-		166,8	-
12 COOCH₃	50,3	3,71 s		51,3	3,31 s
13 COOCH₃	-	-		52,2	3,31 s
Glc			Glc		
1'	98,7	4,68 d (7,9)	1''	98,6	4,70 d (7,9)
2'	73,2	3,21 t (9,0-7,9)	2''	73,3	3,22 dd (9,0-7,9)
3'	76,6	3,38 t (9,0)	3''	76,6	3,39 t (9,1)
4'	70,2	3,29 t (9,0)	4''	70,1	3,29 t (9,5)
5'	77,0	3,33 m	5''	76,9	3,33 m
6'	61,3	3,68 dd (11,8-5,9) 3,92 d (11,8-1,7)	6''	61,3	3,68 dd (11,8-5,9) 3,91 dd (11,8-1,7)

III.1.3 Elucidation structurale des composés phénoliques

L'étude phytochimique des racines de *Scabiosa semipapposa* a révélé aussi la présence des composés phénoliques. En effet sept composés ont été isolés à partir des fractions A, B et C avec des structures connus dont trois lignanes **Sp21-Sp23** et quatre hétérosides phénoliques **Sp24-Sp27**.

III.1.3.1 Détermination structurale des composés Sp21-Sp23

Le spectre de masse HR-ESI-MS (Figure III-104) du composé **Sp21** en mode positif montre un ion pseudo-moléculaire $[M+Na]^+$ à m/z 397,1265 (calculé 397,1263) correspondant à la formule brute $C_{20}H_{22}O_7Na$.

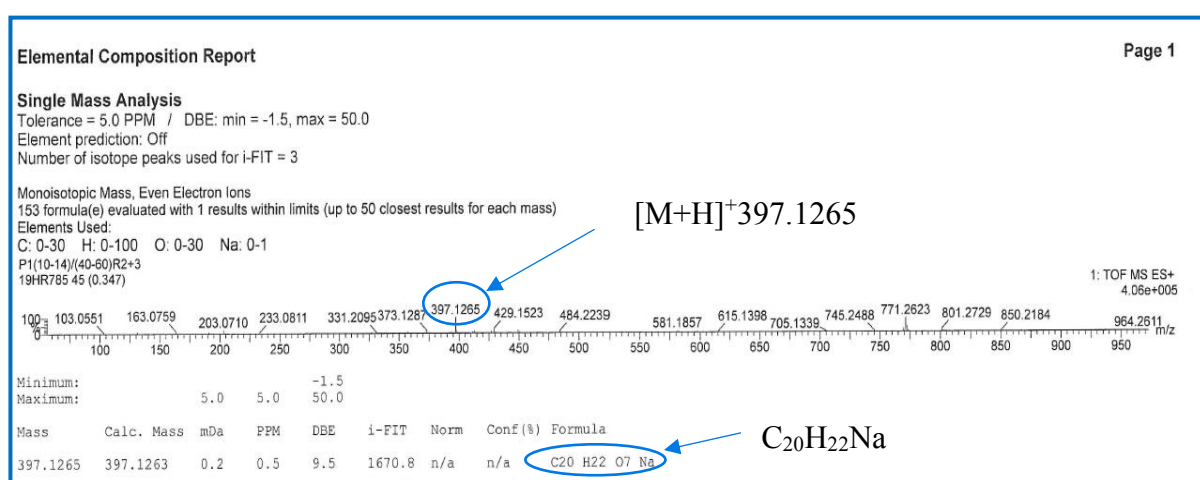


Figure III-104 : Spectres de masse HR-ESI-MS du composé **Sp 21**.

Les spectres RMN 1H et ^{13}C (Figure III-105, III-106) du composé **Sp21** montrent une vaste gamme de signaux de carbones et protons engagés dans deux environnements chimiques aromatiques et aliphatiques caractéristiques d'un squelette lignane.

A partir de la zone des protons aromatiques, le spectre RMN 1H (Figure III-105) montre la présence de six protons aromatiques localisés à δ_H 6,80, 6,81, 6,87, 6,89, 7,06, 7,07 ppm, avec des différentes constantes de couplage indiquant la présence de plus d'un groupement aromatique (Tableau III-17).

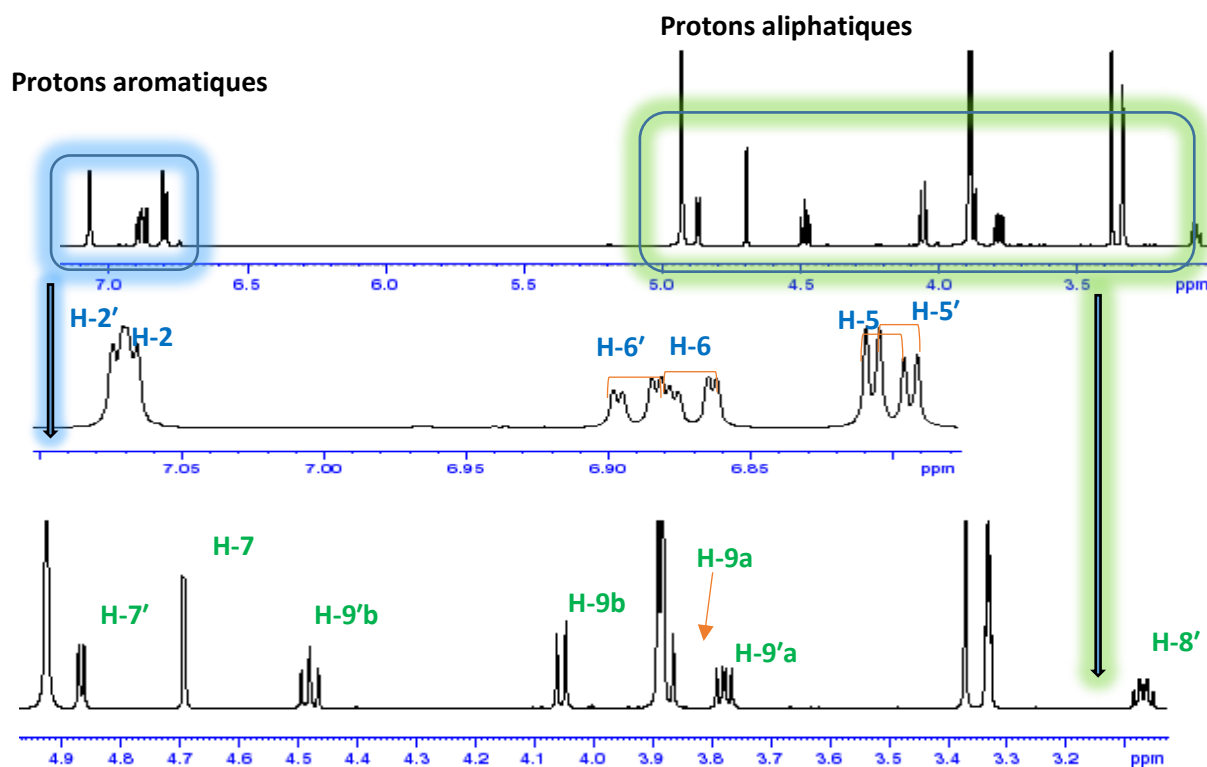


Figure III-105 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp21**.

L'analyse des spectres HSQC et RMN ^{13}C (Figure III-106) révèle la présence de 12 carbones aromatiques divisés en 6 groupements CH résonant à (δ_{H} 7,06/ δ_{C} 113,3), (δ_{H} 6,81/ δ_{C} 114,2), (δ_{H} 6,87/ δ_{C} 120,1), (δ_{H} 7,07/ δ_{C} 109,8), (δ_{H} 6,80/ δ_{C} 114,6) et (δ_{H} 6,89/ δ_{C} 119,1), et 6 carbones quaternaires localisés à δ_{C} 127,6, 147,3, 146,0, 132,2, 147,7 et 146,1.

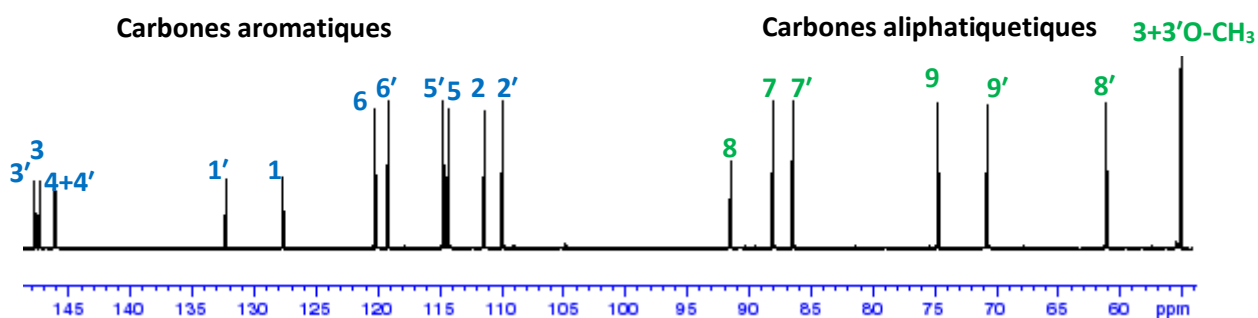


Figure III-106 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp21**.

Cette répartition des carbones et protons aromatiques confirme la présence de deux noyaux aromatiques.

L'analyse du spectre COSY (Figure III-107), la multiplicité ainsi que la constante de couplage ont permis de distinguer les protons de chaque cycle. Pour le cycle aromatique **A** le proton H-2 à $\delta_{\text{H}}7,06$ ppm ($dd, J=2,0$ Hz) donne une corrélation avec le proton H-6 localisé à $\delta_{\text{H}}6,87$ ppm en position *méta* ($dd, J=8,1-2,0$ Hz) lui-même couplé avec le proton H-5 en position *ortho* situé à 6,81 ppm ($d, J=8,1$ Hz). De la même façon les protons du deuxième cycle aromatique **B** ont été attribués : le proton H-6' à $\delta_{\text{H}}6,89$ ppm ($dd, J=8,1-2,0$ Hz) donne des corrélations avec les deux protons H-2' à 7,07 ppm ($d, J=2,0$ Hz) et H-5' à 6,80 ppm ($d, J=8,1$ Hz). Les constantes de couplage des trois protons de chaque cycle révèlent qu'ils forment un système ABX et que les cycles aromatiques **A** et **B** sont 1, 3,4 et 1', 3',4' -trisubstitués respectivement [Silverstein et al 2005] et confirme l'attribution précédente de ces protons au H-2, H-6 et H-5 pour le cycle **A** et H-2', H-6' et H-5' pour le cycle **B**.

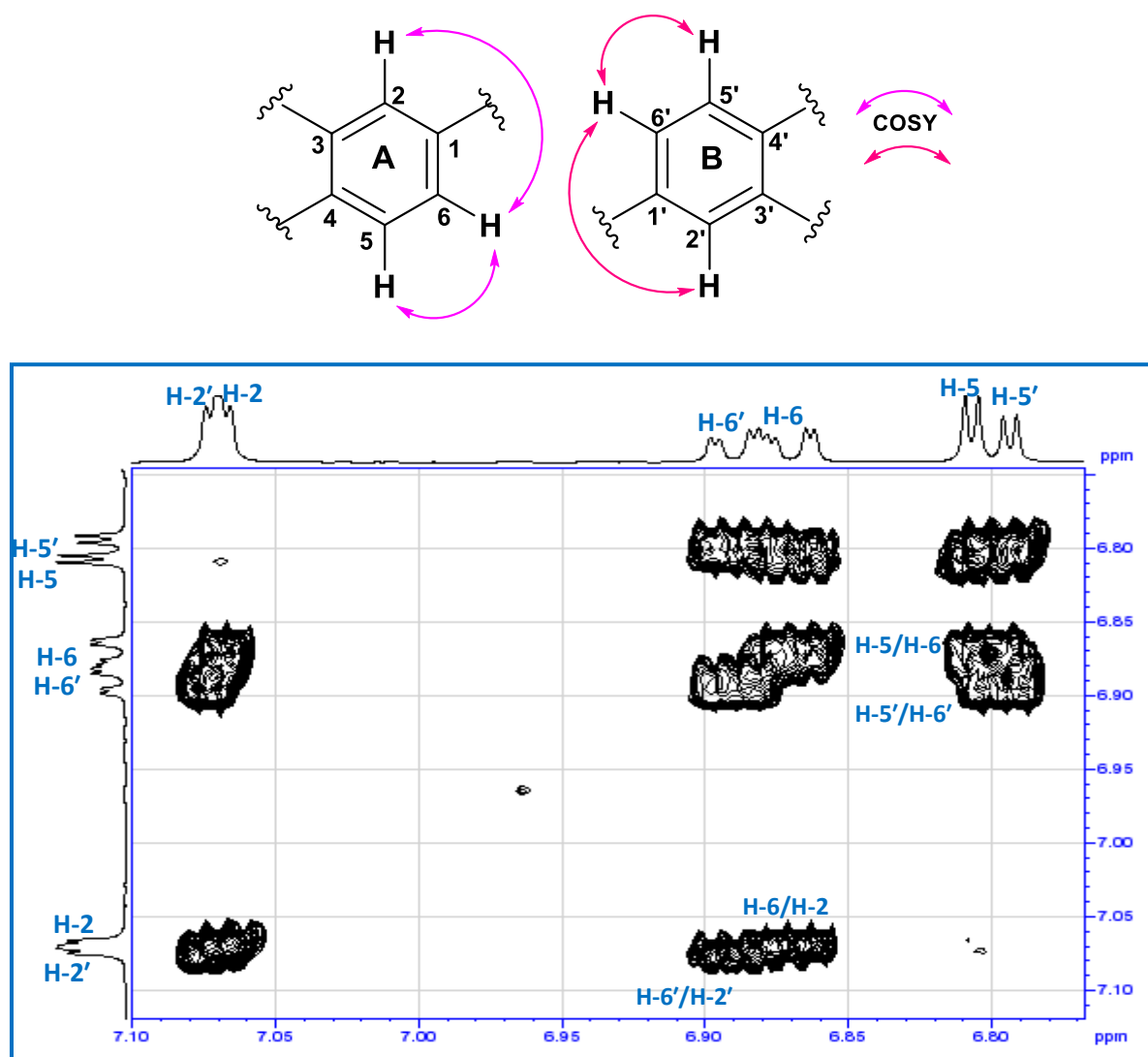


Figure III-107 : Spectre COSY de la zone aromatique du composé Sp21.

Sur le spectre HSQC ces protons sont assignés à leurs carbones respectifs (Figure III-108).

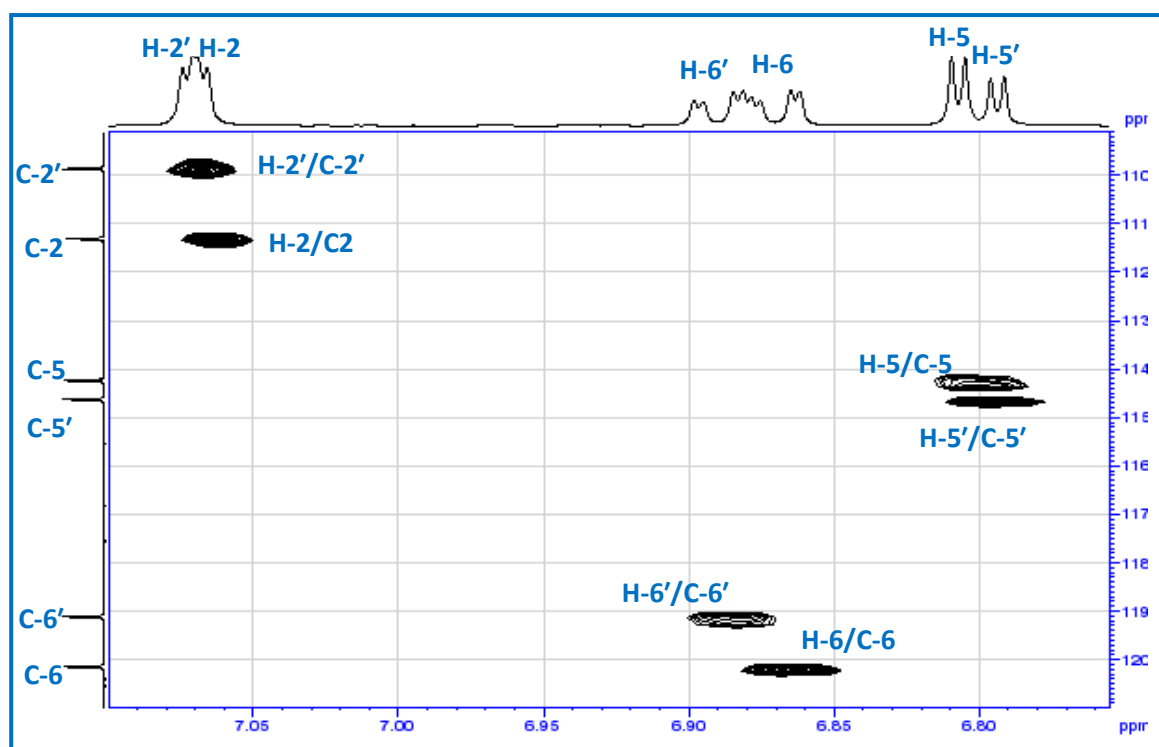


Figure III-108 : Spectre HSQC de la zone aromatique du composé **Sp21**.

Les corrélations HMBC (Figure III-109) à partir de ces protons aromatiques ont permis de localiser les carbones quaternaires des deux cycles aromatiques :

✚ Le cycle A :

-Le proton H-2 présente des corrélations avec les carbones C-6 (δ_C 120,1), C-1 (δ_C 127,6) C-4 (δ_C 146,1) et C-3 (δ_C 147,3).

-le proton H-6 présente des corrélations avec les carbones C-2 (δ_C 111,3), C-4 et le C-3.

-le proton H-5 présente des corrélations avec les carbones C-1, C-3 et C-4.

✚ Le cycle B :

-Le proton H-2' présente des corrélations avec le carbone C-6' (δ_C 119,1) et les carbones quaternaires C-1' (δ_C 132,2), C-4' (δ_C 146,0) et C-3' (δ_C 147,7) .

-le proton H-6' présente des corrélations avec les carbones C-2' (δ_C 109,8), C-4' et C-3'.

-le proton H-5' présente des corrélations avec les carbones C-1', C-3' et le C-4'.

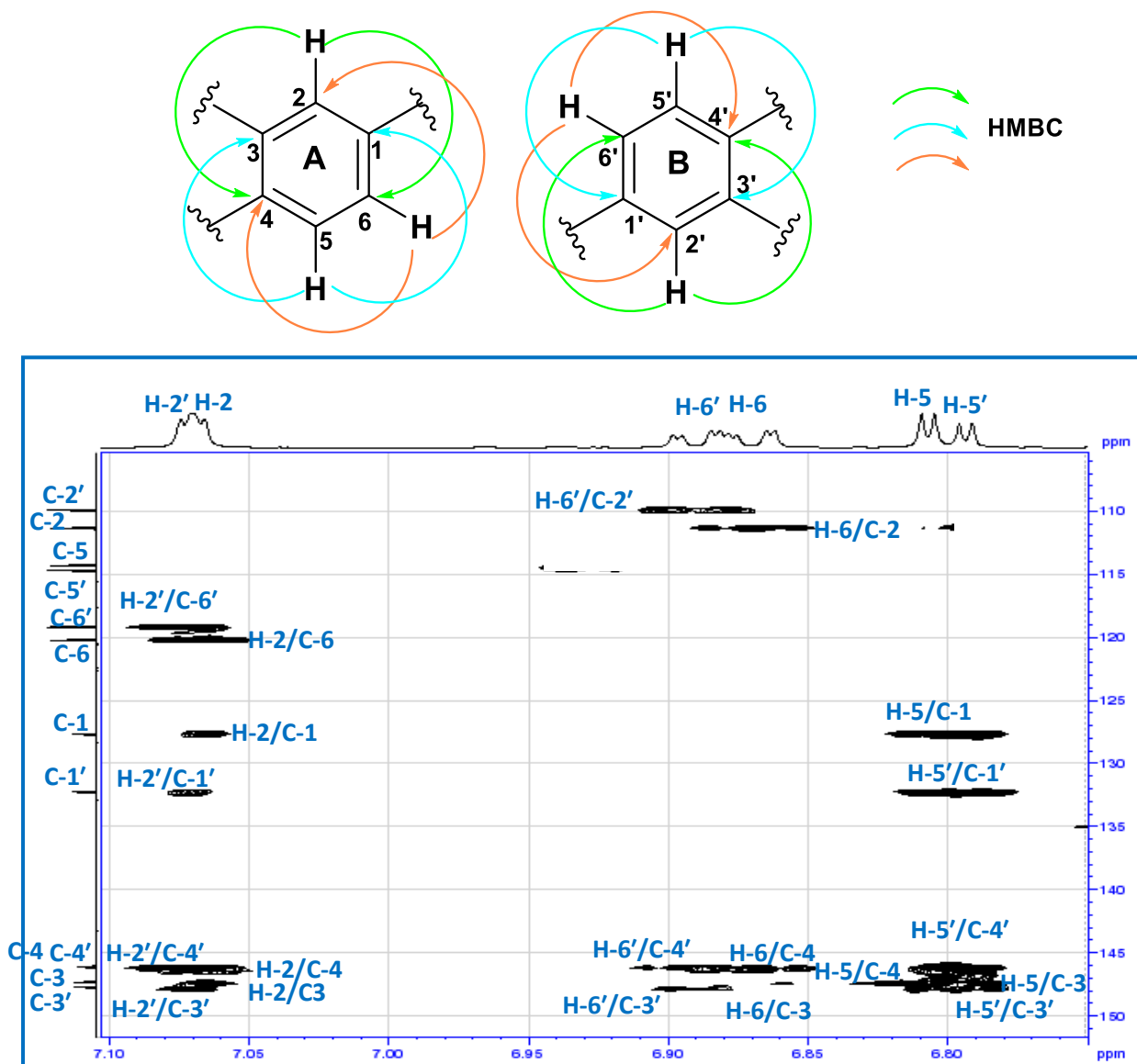


Figure III-109 : Spectre HMBC de la zone aromatique du composé **Sp21**.

Le déblindage des carbones C-3, C-4 et C-3', C-4' des deux cycles indique la présence des substitutions au niveau de ces carbones. Sur le spectre HMBC (Figure III-110) nous observons des taches de corrélations entre les groupements méthoxy localisés à δ_H 3,89 et 3,88 ppm dont leurs carbones résonnent à 54,9 ppm sur le spectre HSQC (Figure III-110) et les carbones C-3 (δ_C 147,3) et C-3' C-3' (δ_C 147,7).respectivement. Les effets nOe sur le spectre NOESY (Figure III-111) entre le proton H-2 et le méthoxy 3-CH₃ (δ_H 3,89) et entre le proton H-2' et le méthoxy 3'-CH₃ (δ_H 3,88) confirment ces substitutions

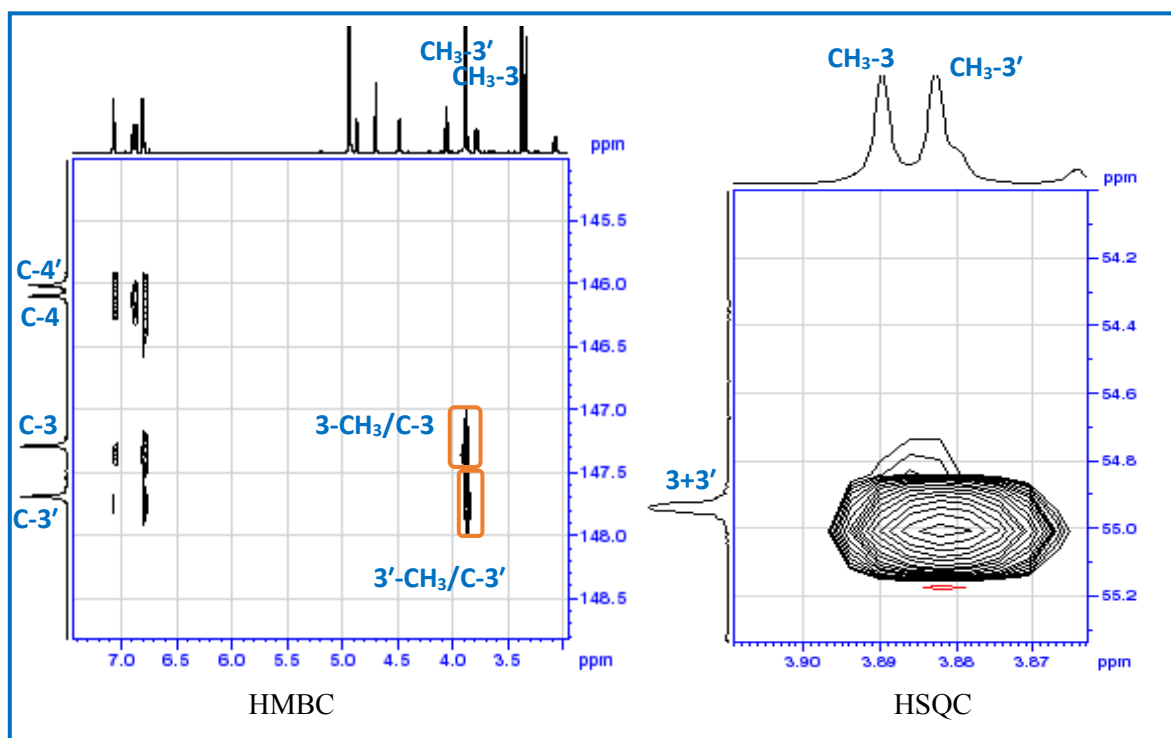


Figure III-110 : Spectre HMBC et HSQC des protons méthoxylique du composé **Sp21**.

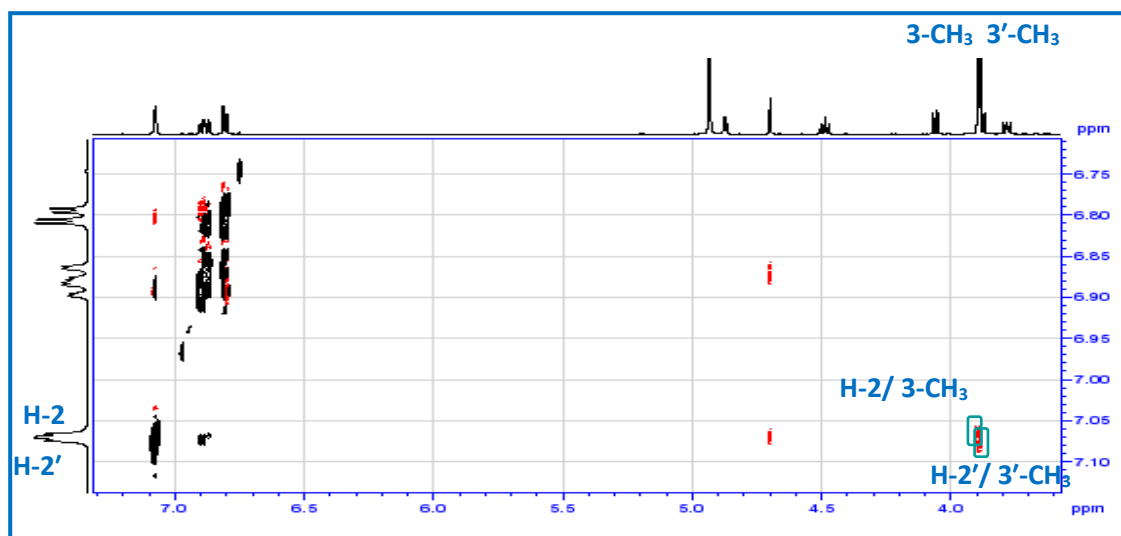
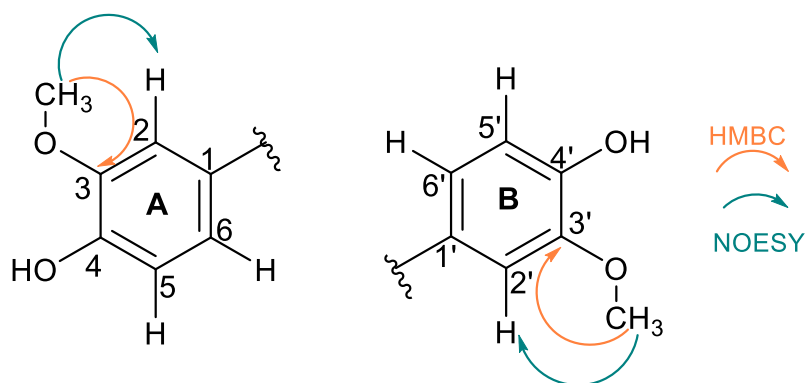


Figure III-111 : Spectre NOESY des protons méthoxyliques du composé **Sp21**.

Pour les carbones C-4' ($\delta_C 146,0$) et C-4 ($\delta_C 146,1$), les valeurs déblindés de leurs déplacements chimiques et l'absence des corrélations entre ces carbones et d'autres protons hors les protons des cycles sur le spectre HMBC nous a permis d'attribuer aux substituants en position C-4 et C-4' des groupements hydroxyles.

À l'issu de tous ces données spectrales les deux cycles aromatiques **A** et **B** sont identifiés au 4-hydroxy-3-méthoxyphényle et au 4'-hydroxy-3'-méthoxyphényle respectivement.

Sur le spectre RMN ^1H (Figure III-105) nous observons aussi en plus d'autres signaux intégrant chacun pour un 1H ; trois doublets résonants à δ_H 4,87, 4,05, 3,88, un singulet à δ_H 4,69, un triplet à δ_H 4,48, un doublet de doublet à δ_H 3,78 et un doublet triplet à δ_H 3,07 ppm.

La corrélation de ces protons sur le spectre HSQC (Figure III-112) a permis de distinguer trois groupements méthine à ($\delta_H 3,07, \delta_C 61,0$), ($\delta_H 4,69, \delta_C 87,9$) et ($\delta_H 4,87, \delta_C 86,3$) et deux groupements méthylène ($\delta_H 3,78, 4,48, \delta_C 70,6$) et ($\delta_H 3,88, 4,05, \delta_C 74,6$). Les déplacements chimiques des carbones des quatre derniers groupements indiquent que ces groupements sont porteurs d'oxygène.

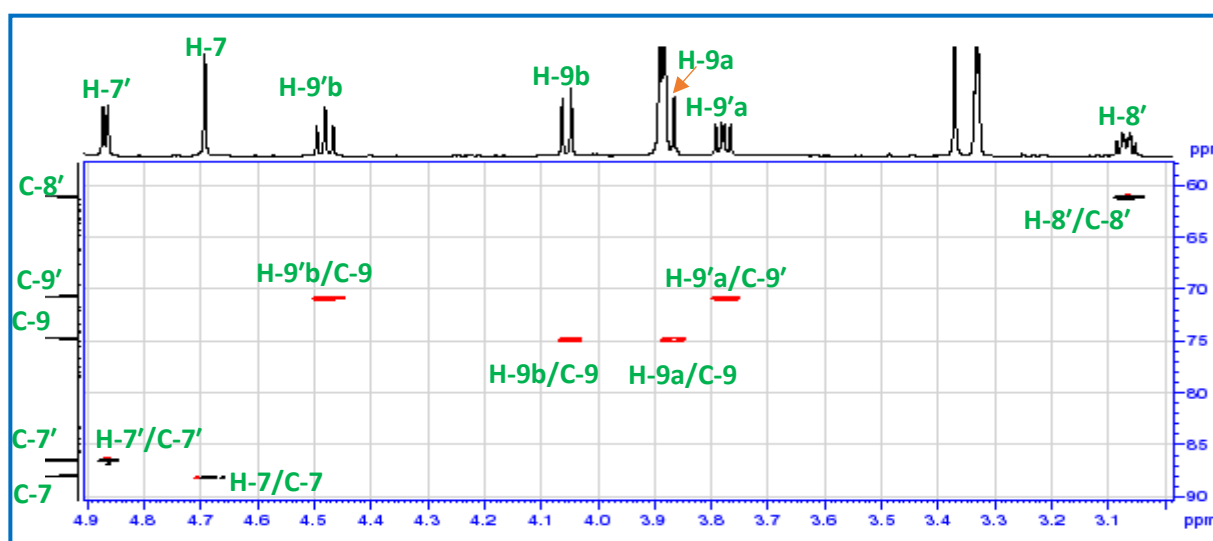


Figure III-112 : Spectre HSQC [3.0-5.0 ppm] du composé Sp21.

L'expérience HMBC (Figure III-113) montre des corrélations H-C conduisant à la formation d'un squelette furofurane à travers les couplages entre :

- Le proton H-7 ($\delta_H 4,69$) et les carbones C-8, C-8', C-9' et C-9.
- Le proton H-7' ($\delta_H 4,87$) et les carbones C-8, C-8', C-9' et C-9.

- D'autres corrélations sont observées entre les protons oxyméthylènes H-9'a (δ_H 3,78), H-9'b (δ_H 4,48) et H-9a (δ_H 3,88), H-9b (δ_H 4,05) et les carbones C-8' (δ_C 61,0), C-7' (δ_C 86,3), C-7 (δ_C 87,9) et C-8 (δ_C 91,4) confirment la structure de ce squelette.

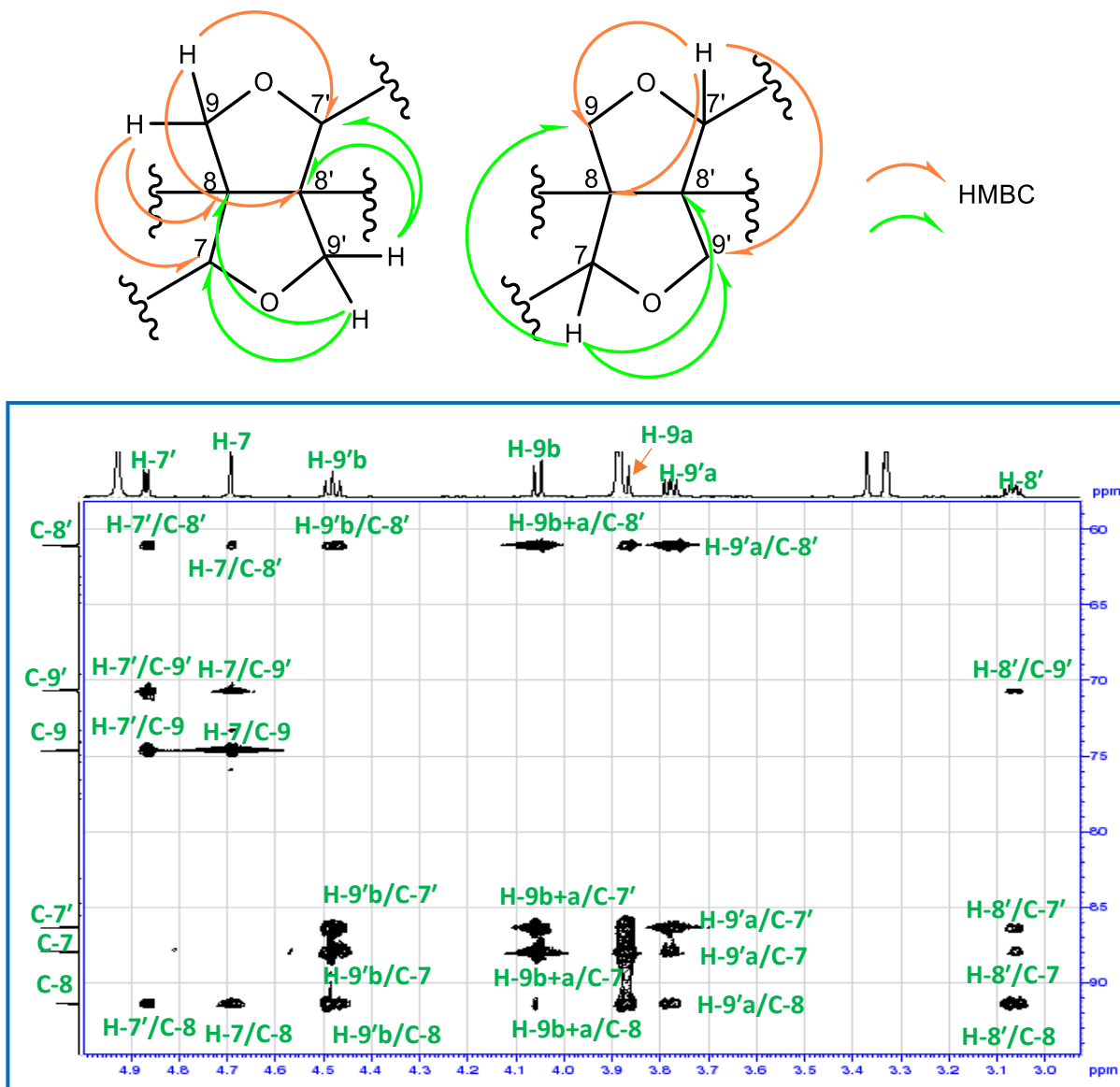


Figure III-113 : Spectre HMBC [3.0-4.9 ppm] du composé Sp21.

L'expérience COSY (Figure III-114) de sa part présente des corrélations entre les protons géminés oxyméthylènes H-9a et H-9b et entre H-9'a et H-9'b. Ces derniers donnent à leurs tour des corrélations avec un proton le proton H-8 qui corrèle de son côté avec le proton oxyméthine H-7'.

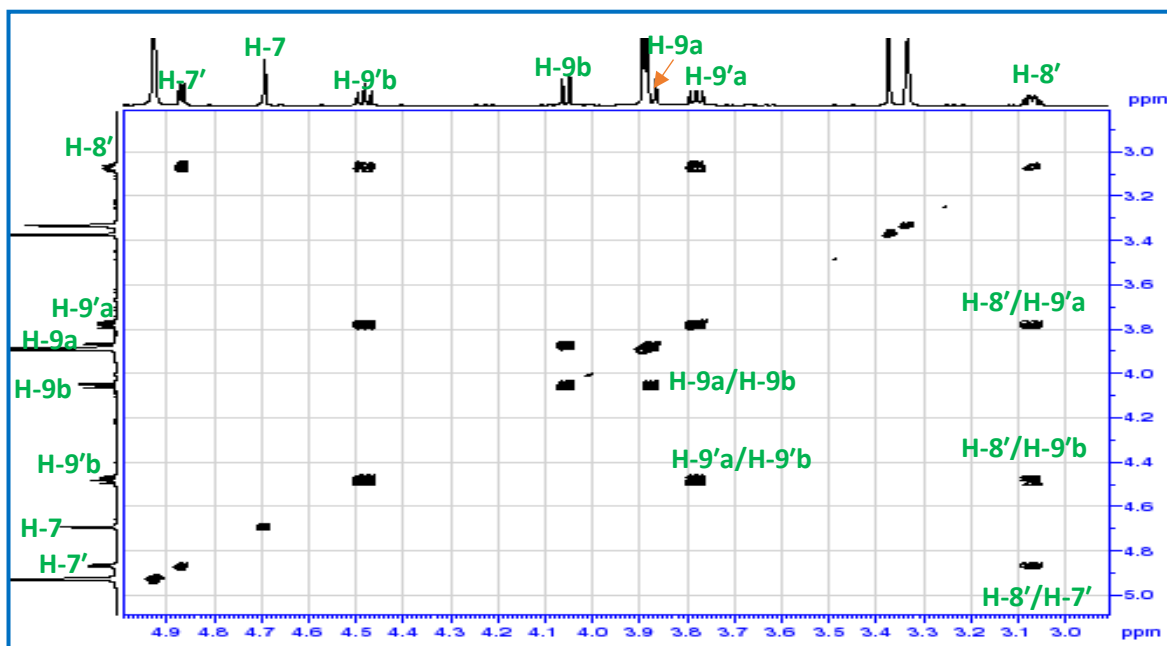


Figure III-114 : Spectre COSY [3.0-5.0 ppm] du composé Sp21.

Les connexions des différents fragments de ce composé sont réalisées par l'expérience HMBC (Figure III-115) qui montre les corrélations en 2J , 3J entre :

- Le proton H-7 et les carbones du cycle aromatique A ; C-2, C-6 et C-1
- Le proton H-7' et les carbones du cycle aromatique B : C-2', C-6' et C-1'

Informent ainsi que ces deux noyaux aromatiques substituent chacun un noyau furane.

A ce stade, cette connectivité nous a permis de classer le Sp21 à la classe des lignanes et plus particulièrement celle de type pinoresinol [Piccinelli et al., 2004].

Le déblindage du carbone C-8 du groupement furofurannique à δ_c 91,4 ppm par rapport au carbone C-8' situé à δ_c 61,0 ppm (Tableau III-17) révèle la présence d'un groupement hydroxyle alcoolique lié au carbone C-8 qui est confirmé par le blindage du carbone C-1 à δ_c 127,6 ppm par comparaison avec celui du C-1' situé δ_c 132,2 ppm due à l'effet γ blindant du groupement hydroxyle [Tsukamoto et al., 1984 b]. Toutes ces données confirment que ce composé est un lignane appartenant aux dérivés pinoresinol [Piccinelli et al., 2004].

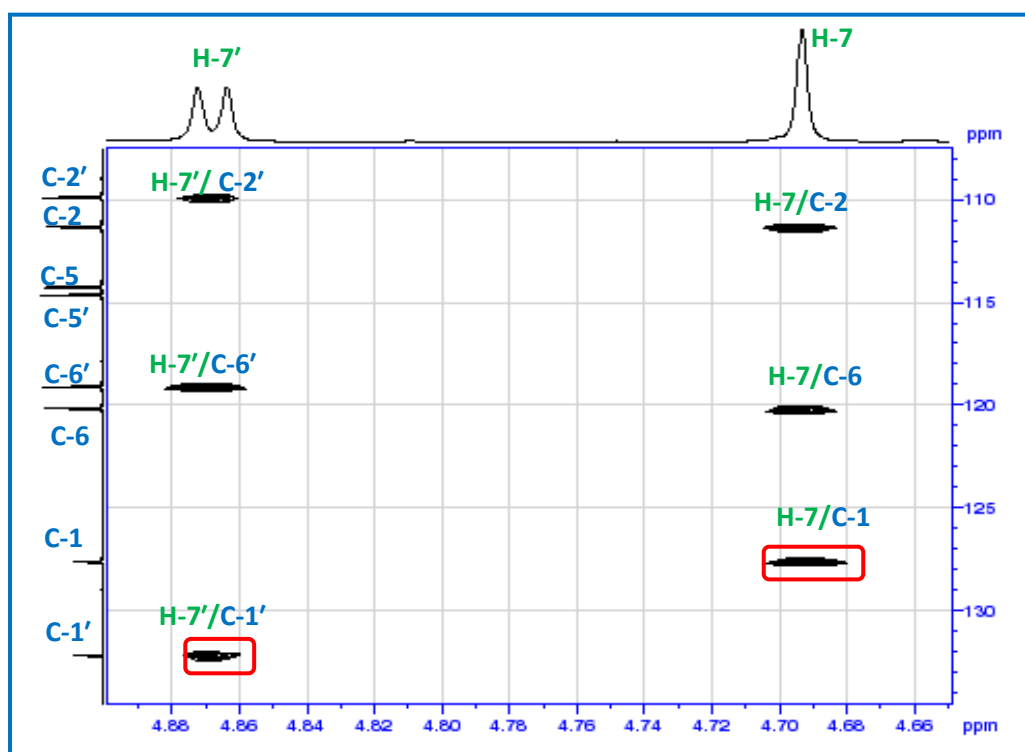
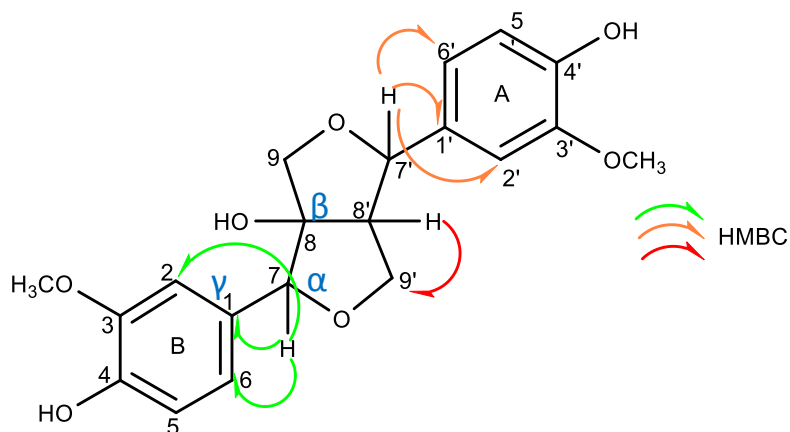
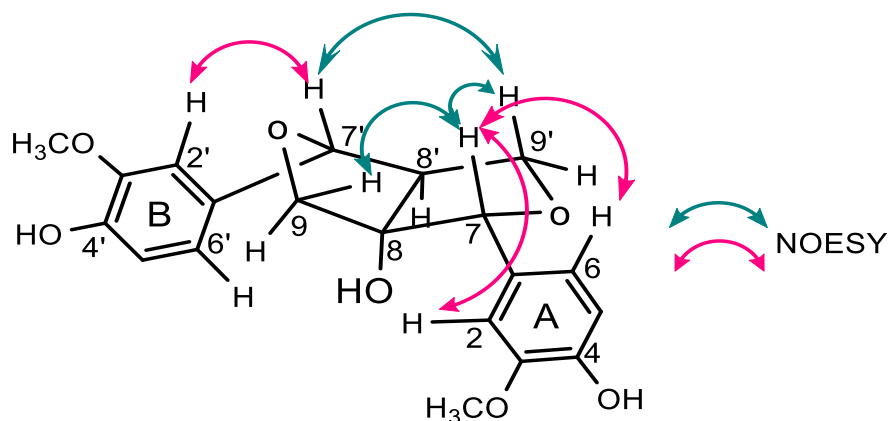


Figure III-115 : Spectre HMBC [4.65-4.89 ppm] du composé Sp21.

Les données de la littérature sur la stéréochimie des lignanes de type pinoresinol, montrent que la jonction des deux cycles oxalane du furofurane est toujours en configuration *cis* avec une conformation enveloppe pour chaque cycle, donnant l'ensemble d'un squelette furofurannique d'une conformation chaise/bateau avec une position opposée des deux atomes d'oxygène. (configuration *endo/exo*) dont les deux substituants en C-8 et C-8' sont situés dans la face α [Hofer et al., 1988; Hofer et Wurz ., 1992 ;Lutz et al., 1997].

Les corrélations NOESY entre H9'a/H-7 et l'absence des corrélations entre H-7'/H-9b est en accord avec une conformation chaise /bateau pour le noyau furofurane [Lutz et al., 1997].



Corrélation NOESY du composé Sp 21.

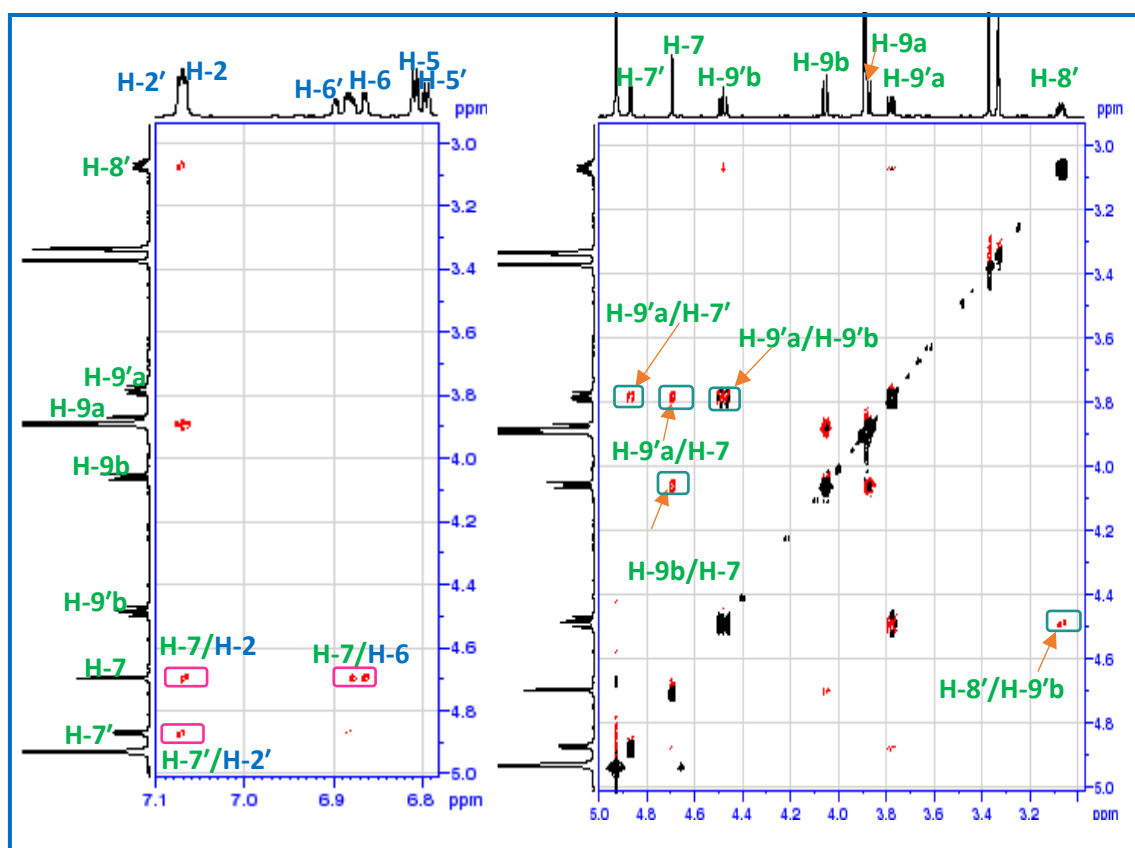
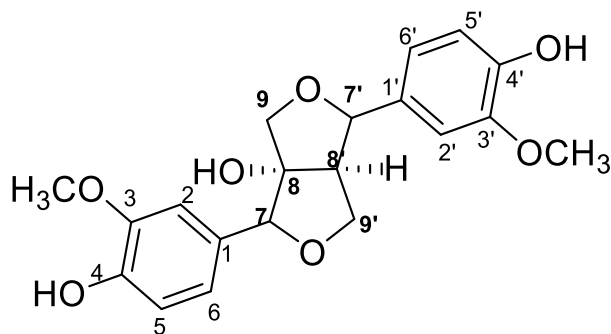


Figure III-116 : Spectre NOESY du composé Sp21.

A l'issue de cette analyse spectrale et la comparaison avec les données de la littérature [Tsukamoto et al.,1984a ;Tsukamoto et al .,1984b ;Cowan et al.,2001] ce composé a été identifier au **8-hydroxypinoresinole** Isolé pour la première fois a partir du genre *Scabiosa* et précédemment à partir des racines de *Valeriana prionophylla*(*valerianaceae*) et qui présente un excellent pouvoir antioxydant et une très bonne activité vasorelaxante [Piccinelli et al.,2004].



Sp21 : 8-hydroxypinoresinol

Les spectres de masse HR-ESI-MS (Figure III-117) en mode positif du Sp22 et Sp23 montrent des ions pseudo-moléculaires $[M+Na]^+$ à m/z 559,1790 et 559,1791 respectivement, compatibles avec la formule brute $C_{26}H_{32}O_{12}Na$. La différence de masse de 162 *uma* par rapport au composé Sp21 suggère la présence d'un hexose supplémentaire dans les composés Sp22 et dans Sp23.

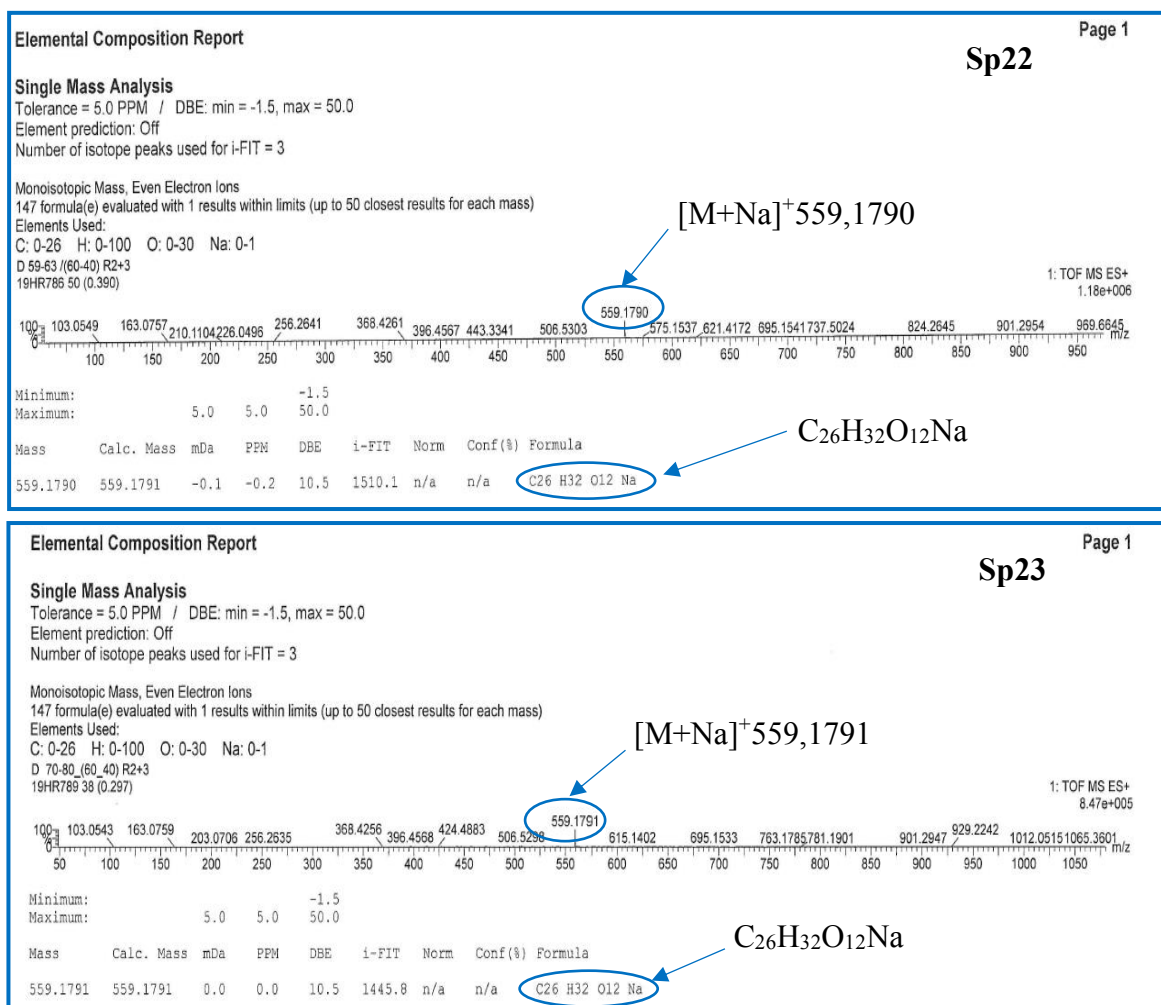


Figure III-117 : Spectres de masse HR-ESI-MS des composés Sp22 et Sp23.

Le spectre RMN ^1H du composé **Sp22** (Figure III-118) présente une constitution quasi identique à celui de composé **Sp21**, il permet l'identification de tous les protons d'un même squelette lignane (du 8-hydroxypinoresinol) confirmé par l'analyse conjointe des spectres COSY H-H, HSQC, HMBC.

De plus, le spectre RMN ^1H de ce composé, montre un signal d'un proton anomérique résonnant sous la forme d'un doublet à grande constante de couplage à δ_{H} à 4,90 ppm (d , $J_{\text{H1}''\text{-H2}}$ 7,6 Hz), Leur carbone résonne à δ_{C} 101.4 (C-1''), attribué à l'aide du spectre HSQC J -modulé.

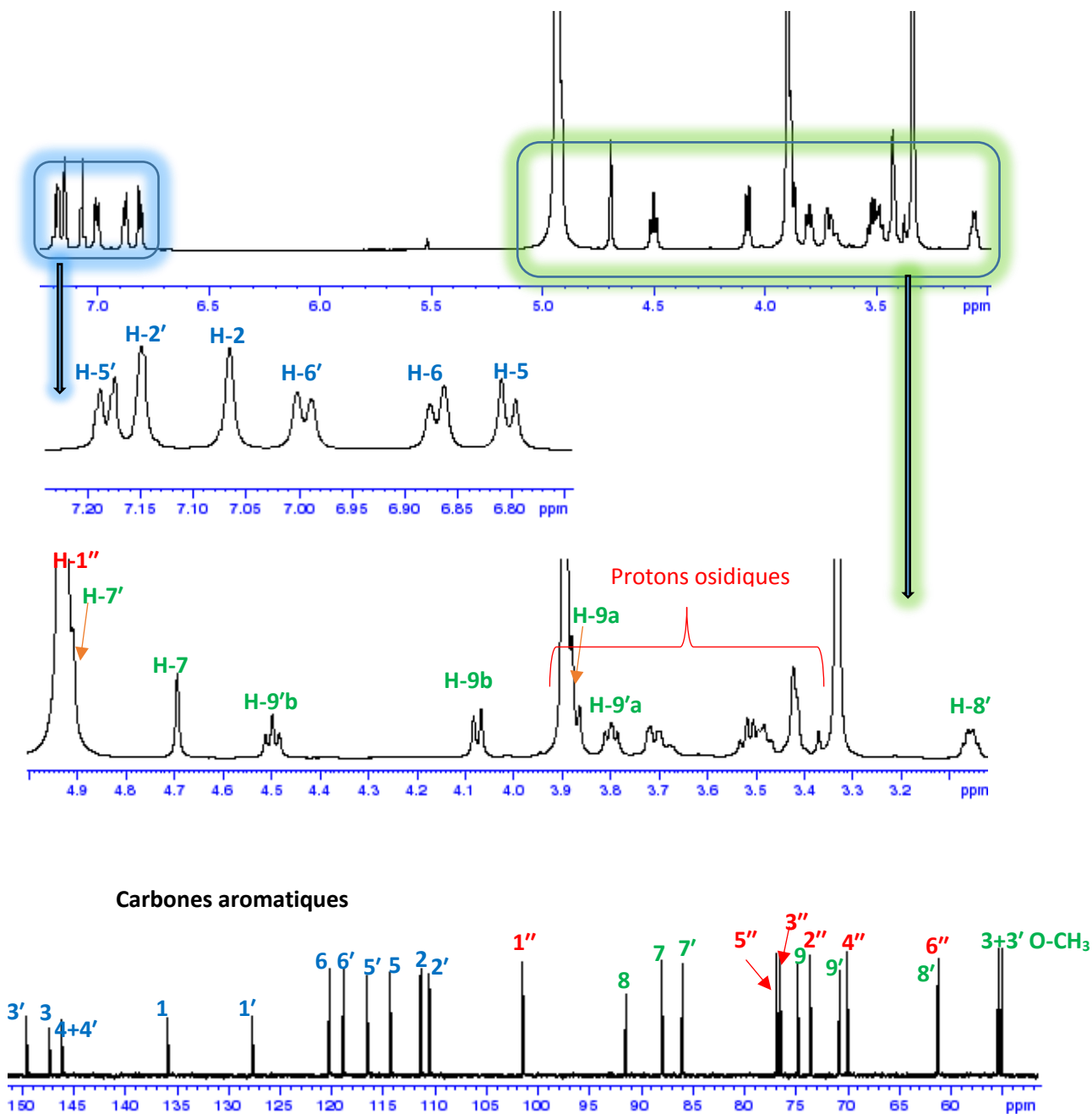


Figure III-118 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé **Sp22**.

L'analyse de spectre COSY (Figure III-119) révèle que ce proton anomérique fait partie du système de sept spins couplés d'un glucose. Les constantes vicinales entre les protons H sont - toutes supérieures à 7 Hz, révèlent des positions axiales pour ces protons, caractéristiques d'un β -D-glucose. Les valeurs des déplacements chimiques des carbones sont en accord avec celles d'un β -D-glucose terminal.

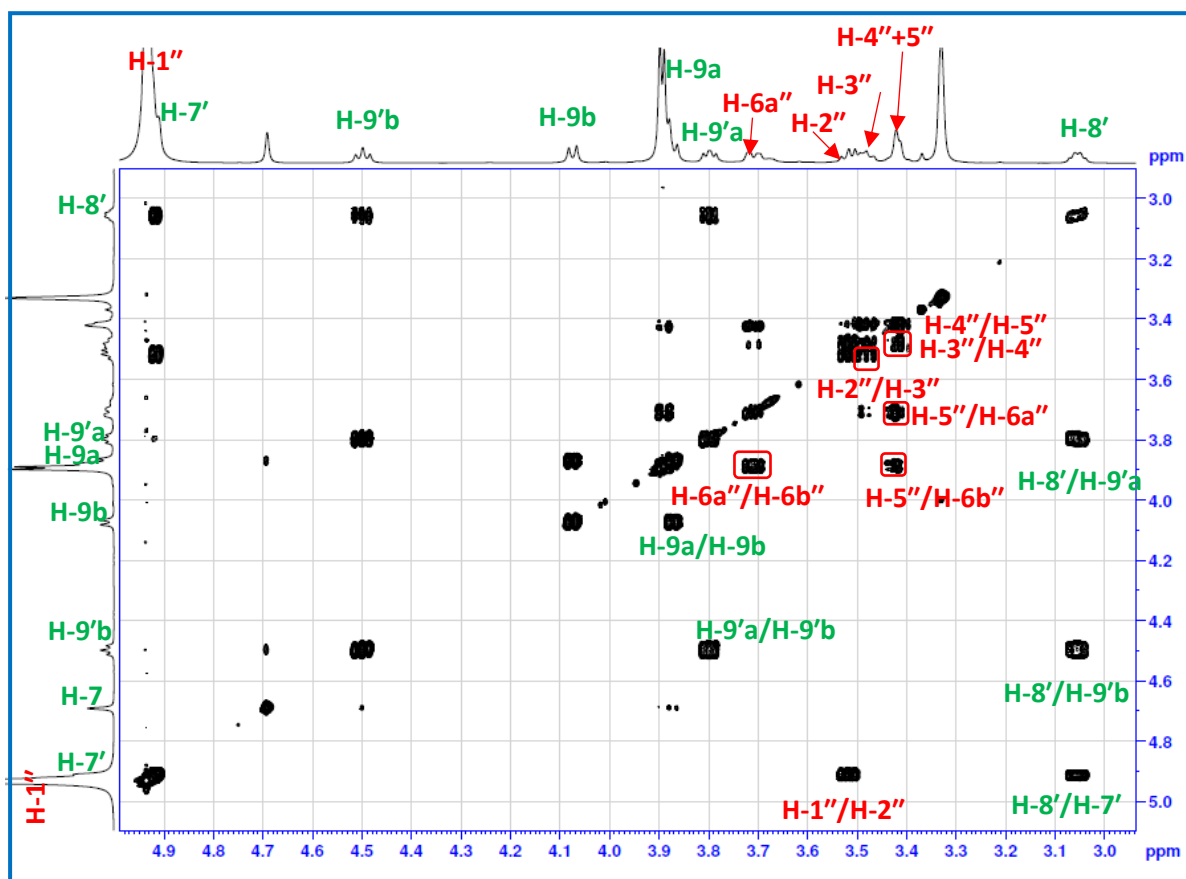


Figure III-119 : Spectre COSY [3.0-4.9 ppm] du composé Sp22.

Sur le spectre HSQC nous avons attribué tous les déplacements chimiques de tous les carbones et protons en suivant le même résonnement que celui utilisé pour l'identification du composé Sp21 (Tableau III-17).

L'analyse du spectre HMBC (Figure III-120) montre une corrélation au niveau du proton anomérique H1'' avec le carbone C-4' (146,0) du noyau aromatique **B** indique l'attachement du glucose en cette position. Le déblindage des carbones C-1' et C-3' à 135,8 et 149,5 ppm respectivement par rapport aux valeurs enregistrées pour le 8- hydroxypinoresinol C1' (132,2), C-3' (174,7) (Tableau III-17) confirme cette substitution [Nishibe, et al., 1984].

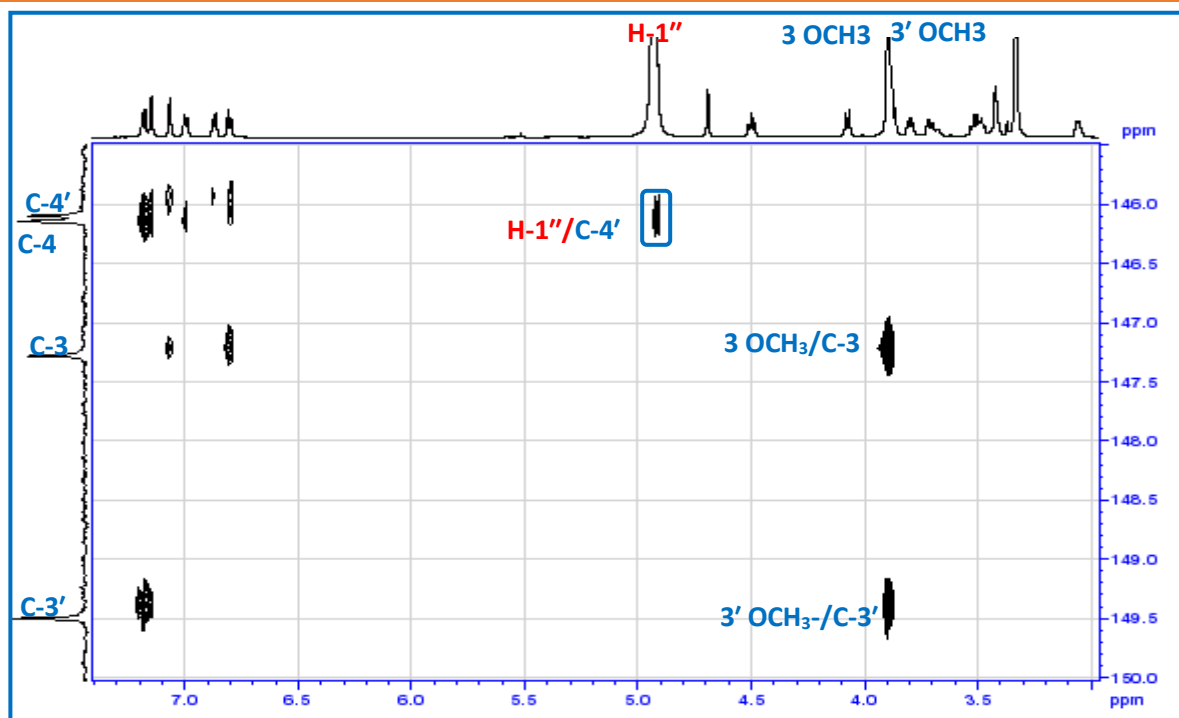
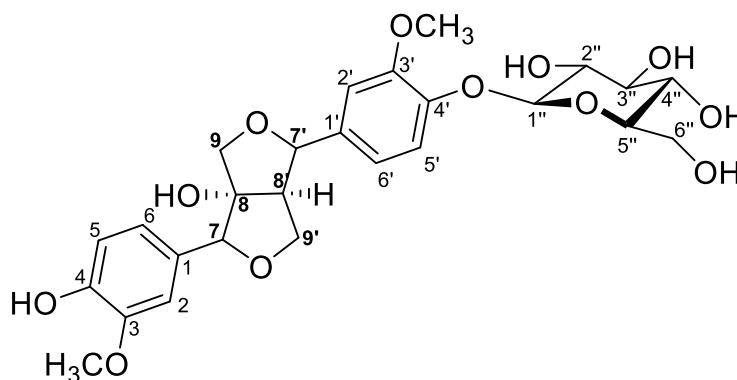


Figure III-120 : Spectre HMBC [3.0-7.5ppm, 140.0-150.0ppm] du composé Sp22.

L'ensemble de ces données spectroscopiques et la comparaison avec les données de la littérature [Deyama et al., 1986], permettent d'attribuer pour le composé Sp22 la structure suivante :

(+)-8hydroxypinorenisol -4'-O - β -D- glucopyranoside. Isolé pour la première fois à partir du genre *Scabiosa*.



Sp22 : (+)-8 hydroxypinorenisol -4'-O - β -D- glucopyranoside

Le spectre RMN ^1H (figure III-121) du composé **Sp23** est très voisin de celui du composé **sp22**, en effet, on reconnaît tous les signaux caractéristiques des protons, à savoir :

Les signaux des 6 protons aromatiques de deux noyaux résonant à δ_{H} 7.07 (*s*, H-2') 6.80 (*d*, H-5') 6.89 (*dd*, H-6') pour le noyau A. et à δ_{H} 7.14 (*s*, H-2), 7.18 (*d*, H-5), 6.97 (*dd*, H-6) pour le noyau B.

Les signaux des protons de groupement furanofurane résonant à δ_{H} 4,74(*s*, H-7) ,3.88 (*d*, H-9a), 4.08 (*d*,H-9b) ,4.87(*d*,H-7') ,3.06 (*dd*,H-8'),3.80 (*dd*,H-9'a) et 4.50 (*dd*, H-9'b).

Les signaux des groupements méthoxy à δ_{H} 3.88 et 3.91 ppm.

Le proton anomérique à δ_{H} 4.90 (*d*, $j=7,6$).

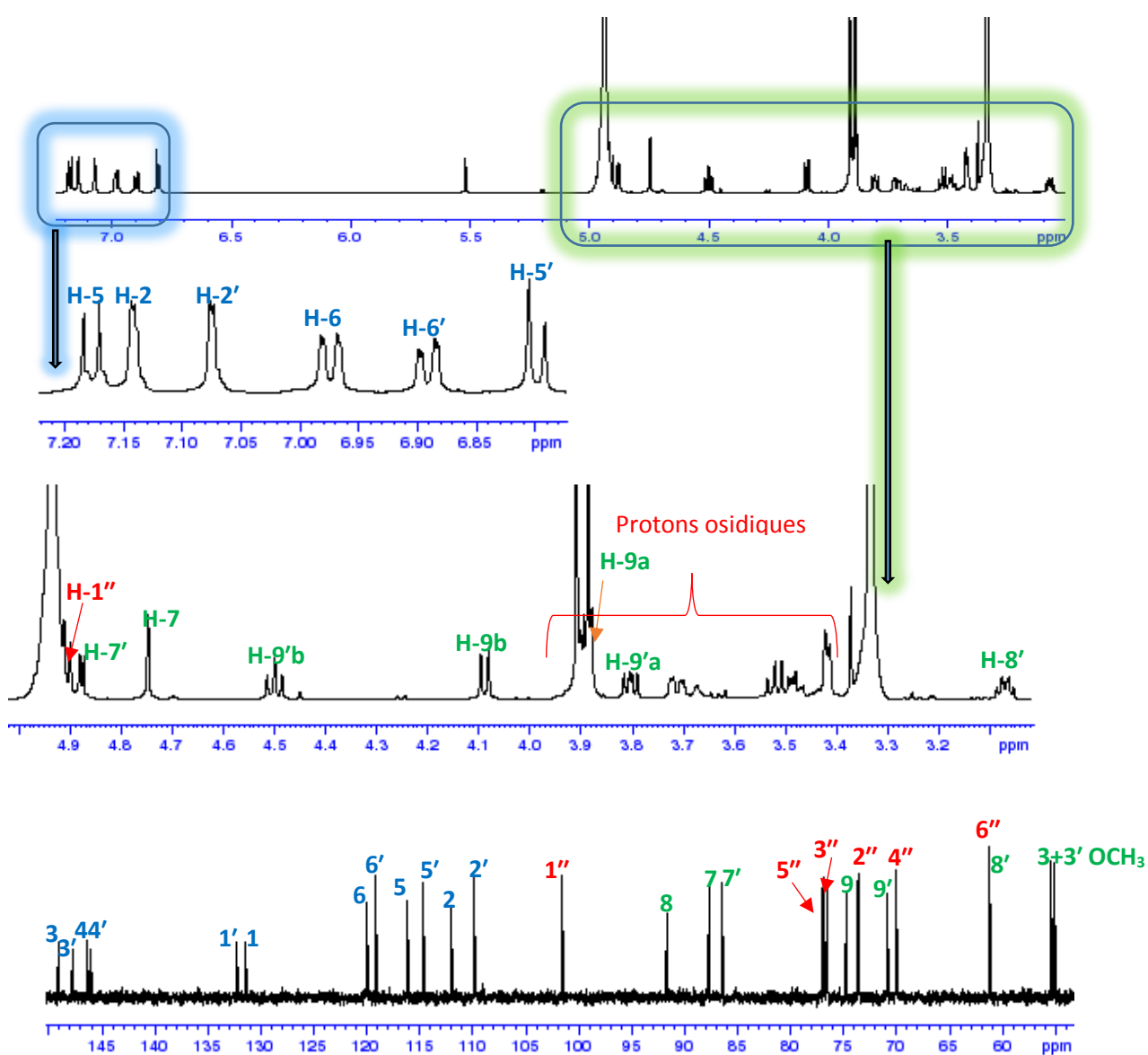


Figure III-121 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé **Sp23**.

La différence notable entre ces deux composés après l'analyse des spectres **RMN 2D** réside dans le point d'ancrage du glucose sur le composé **Sp23**. Le spectre HMBC (Figure III-122) indique que le point de branchement de ce glucose cette fois-ci est sur le cycle aromatique A d'après la corrélation observée entre le proton H-1'' du glucose et le carbone aromatique C-4. Ceci est confirmé par le déblindage des carbones C-1 et C-3 à 131,3 et 149,0 ppm respectivement par rapport aux valeurs enregistrées pour le composé **Sp22** C-1 (127,6), C-3 (147,3) (Tableau III-17).

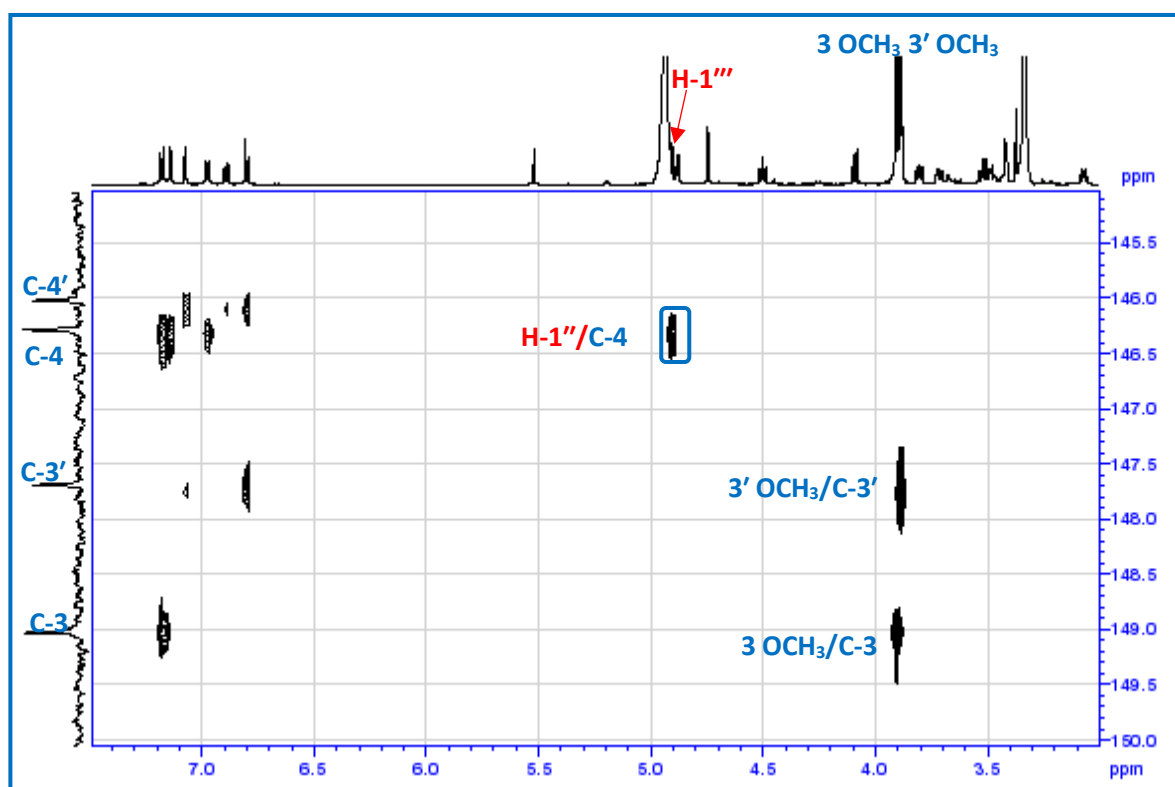
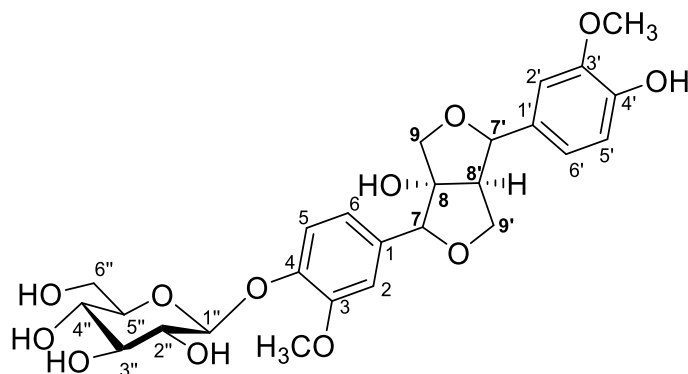


Figure III-122 : Spectre HMBC [3.0-7.5ppm, 145.0-150.0ppm] du composé **Sp23**.

En se basant sur ces données spectroscopiques, et en comparaison avec les données de la littérature [Tsukamoto et al., 1984a ; Tsukamoto et al., 1985], le composé **Sp23** est identifié comme étant : (+)-8hydroxypinorenisol -4-O - β -D- glucopyranoside, isolé pour la première fois à partir du genre *Scabiosa*.



Sp23 : (+)- 8hydroxypinorenisol -4-O - β -D- glucopyranoside

Tableau III-17 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés Sp21-Sp 23 dans CD_3OD .

Position	Composé Sp21		Composé Sp22		Composé Sp23	
	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)
1	127,6	/	127,6	/	131,3	/
2	113,3	7,06 d (2,0)	111,3	7,06 d (1,9)	111,9	7,14 d (2,0)
3	147,3	/	147,3	/	149,0	/
4	146,0	/	146,1	/	146,2	/
5	114,2	6,81 d (8,1)	114,2	6,80 d (8,2)	116,0	7,18 d (8,4)
6	120,1	6,87 dd (8,1-2,0)	120,1	6,87 dd (8,2-1,9)	119,9	6,97 dd (8,4-2,0)
7	87,9	4,69 s	87,9	4,69 s	87,6	4,74 s
8	91,4	/	91,4	/	91,4	/
9	74,6	3,88 d (9,3)	74,7	3,87 d (9,3)	77,6	3,88 d (9,2)
		4,05 d (9,3)		4,07 d (9,3)		4,08 d (9,2)
3 OCH₃	54,9	3,89 s	54,9	3,89 s	56,2	3,91 s
1'	132,2	/	135,8	/	132,1	/
2'	109,8	7,07 d (2,0)	110,4	7,15 d (1,9)	109,6	7,07 d (1,7)
3'	147,7	/	149,5	/	147,7	/
4'	146,1	/	146,0	/	146,0	/
5'	114,6	6,80 d (8,1)	116,5	7,18 d (8,4)	114,6	6,80 d (8,1)
6'	119,1	6,89 dd (8,1-2,0)	118,8	6,98 dd (8,4-1,9)	119,1	6,89 dd (8,1-1,7)
7'	86,3	4,87 d (5,3)	86,3	4,89 d (5,6)	86,3	4,87 d (5,3)
8'	61,0	3,07 dt (7,9-5,3)	61,0	3,05 dt (7,1-6,0)	61,1	3,06 dd (12,5 -6,1)
9'	70,6	3,78 dd (9,2-6,2)	70,6	3,80 dd (9,0-6,3)	70,7	3,80 dd (9,2-6,2)
		4,48 t (8,7)		4,50 t (8,8)		4,50 t (8,6)
3' OCH₃	54,9	3,88 s	55,2	3,90 s	54,9	3,88 s
Glc			Lié en 4'		Lié en 4	
1''			101,4	4,9 d (7,6)	101,4	4,90 d (7,6)
2''			73,5	3,52 dd (9,2-7,6)	73,5	3,52 dd (9,2-7,6)
3''			76,4	3,48 t (9,2)	76,4	3,49 d (9,2)
4''			70,0	3,41 m	70,0	3,41 m
5''			76,8	3,42 m	76,8	3,41 m
6''			61,0	3,71 dd (12,1-4,9)	61,0	3,71 dd (12,0-4,5)
				3,89 m		3,89 m

III.1.3.2 Détermination structurale des composés Sp24 et Sp25

Le spectre RMN¹H du composé **Sp24**, (Figure III-123), montre les signaux correspondant à trois protons aromatiques résonants à δ_H à 7,07 (*d*, $J=1,7$ Hz, H-2), 6,76 (*d*, $J= 8,1$ Hz, H-5) et 6,84 (*dd*, $J= 8,1-1,7$, H-6), des protons osidiques sortant dans la zone 3,25-3,92ppm et un signal caractéristique de proton anomère repéré à 4,33 ppm (*d*, $J= 7,8$ Hz). La multiplicité des signaux des 3 protons aromatiques suggère la présence d'un noyau aromatique trisubstitué.

Ceci est confirmé par expérience COSY H-H (Figure III-124) qui montre clairement le système de spins constituant les protons cités. Ce premier constat nous oriente vers un composé phénolique non flavonoïdique glycosylé.

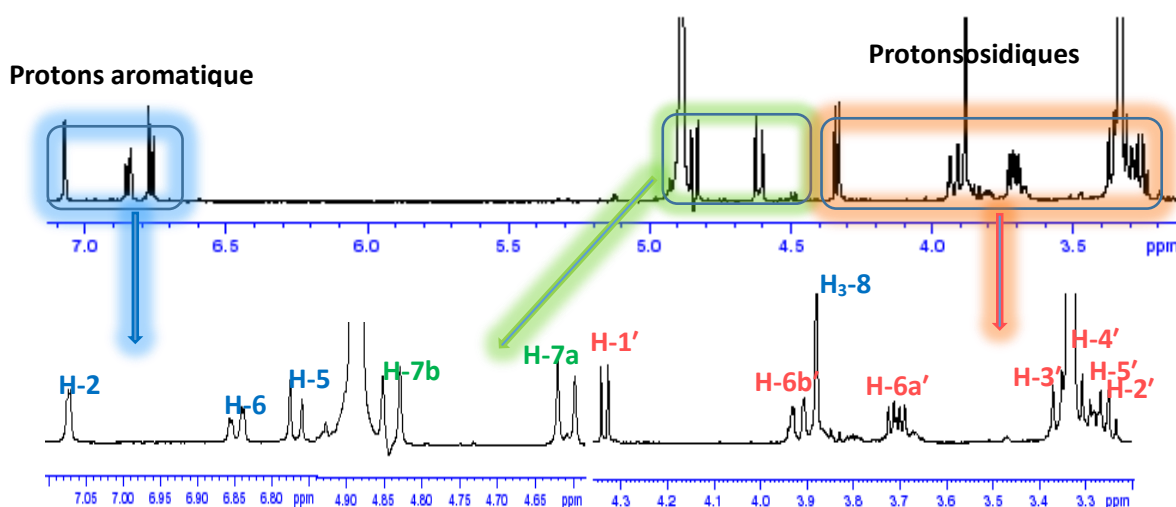


Figure III-123 : Spectre RMN ¹H du composé Sp24.

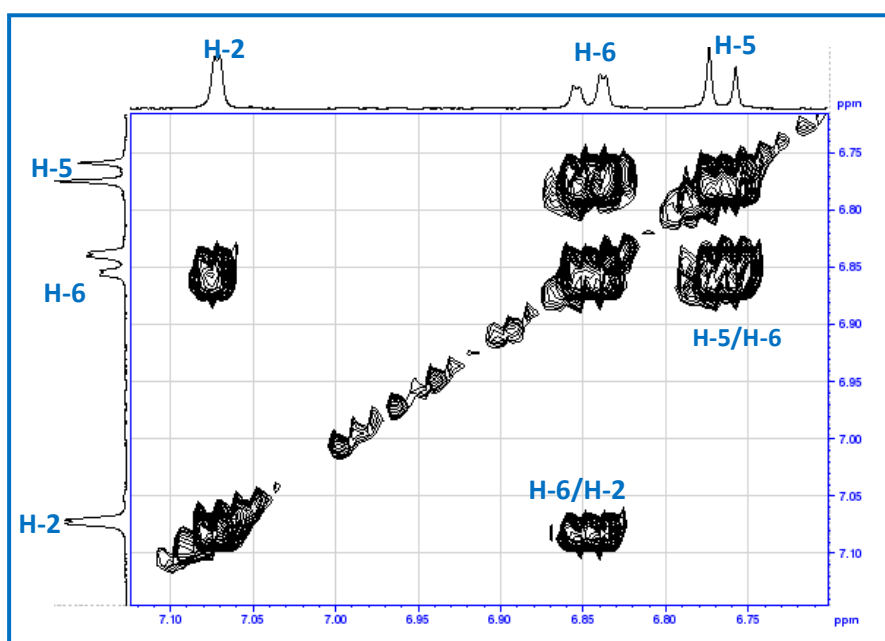


Figure III-124 : Spectre COSY de la partie aromatique du composé Sp24.

Le spectre RMN¹H montre également :

- Des signaux de deux protons formant un système AB à 4,61 (1H, *d*, *J* = 11,3 Hz) et 4,84 ppm (1H, *d*, *J* = 11,3 Hz).
- Un signal apparu à δ_H 3,88 d'intégration 3H correspondant à un groupement méthoxyle.
- Un signal d'un hexose caractérisé par son proton anomérique à 4,33 ppm (*d*, *J* = 7,8Hz).

La présence d'une unité osidique, plus précisément d'un hexose, est confirmé par analyse COSY H-H (Figure III-125). En effet, à partir du proton anomérique H-1' résonant à 4,33 on identifie clairement un système à sept protons d'un hexose, Les grandes valeurs de constantes de couplage impliquant que tous ces protons sont axiaux, permettent d'identifier un glucose de configuration β ($J_{H1'-H2'} = 7,8$ Hz).

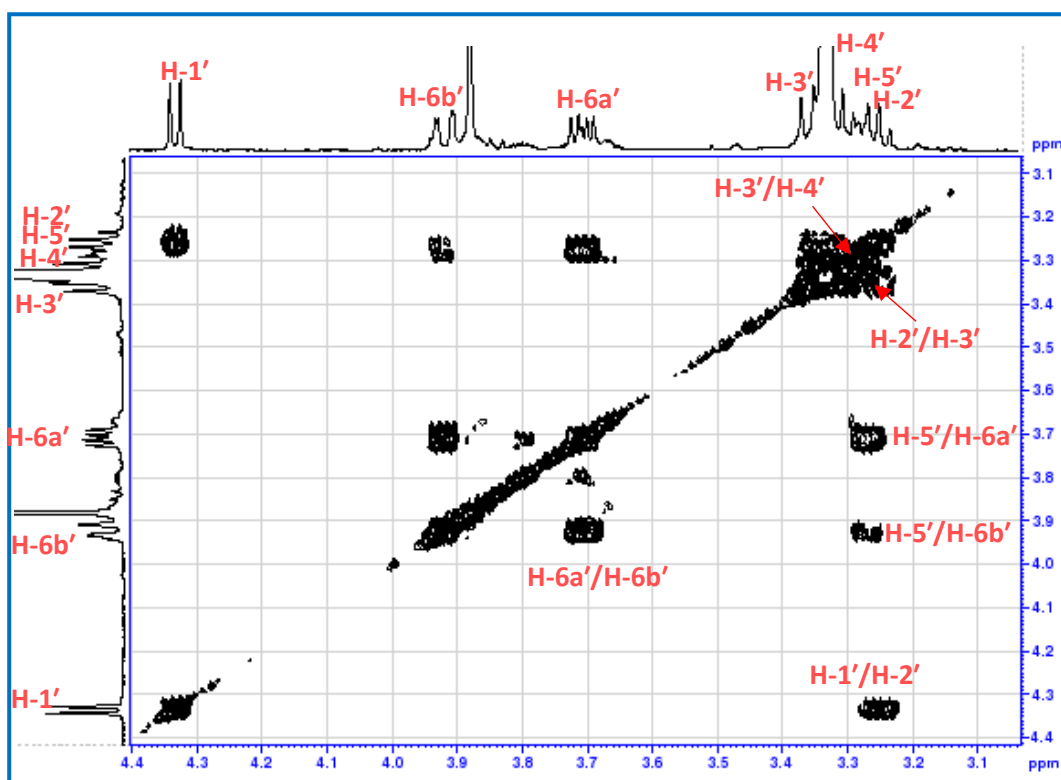


Figure III-125 : Spectre COSY de la zone osidique du composé Sp24.

La substitution du cycle aromatique est basée principalement sur l'analyse du spectre HMBC (Figure III-126). Le carbone aromatique C-3 montre une tache de corrélation avec les protons du groupement méthoxy, ce qui nous permet de dire que ce méthoxy est porté par le carbone C-3. Sur le même spectre, le proton aromatique H-6 présente une corrélation avec le carbone aliphatique C-7 à δ_C 70,3 ppm et un carbone aromatique oxygéné à δ_C 145,9 révèle la présence d'un hydroxyle libre en position C-4.

L'observation sur le spectre HMBC de corrélation entre les protons H-7 et le carbone anomérique C-1' et résonant à 101,4 ppm, atteste que le noyau aromatique est branché en cette position du glucose.

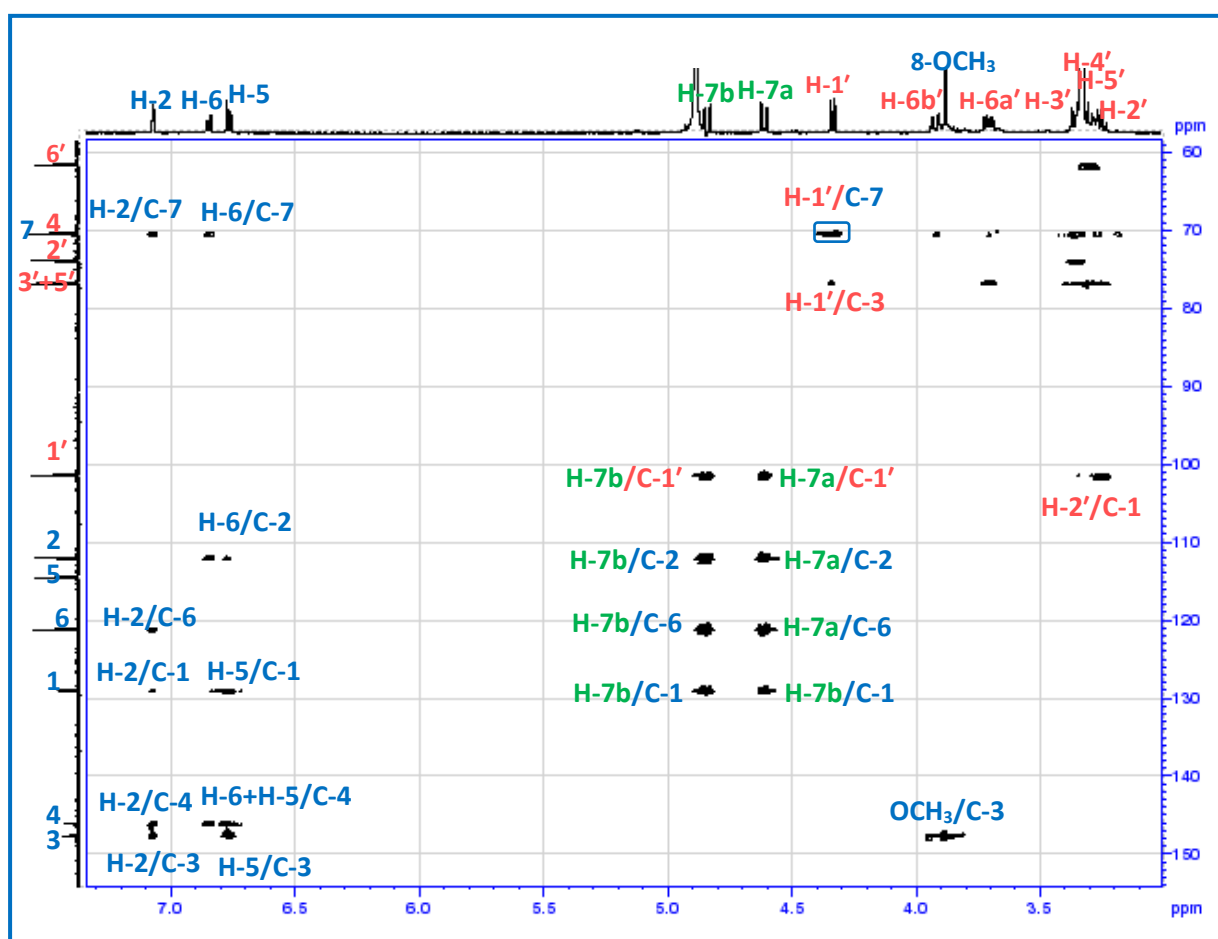
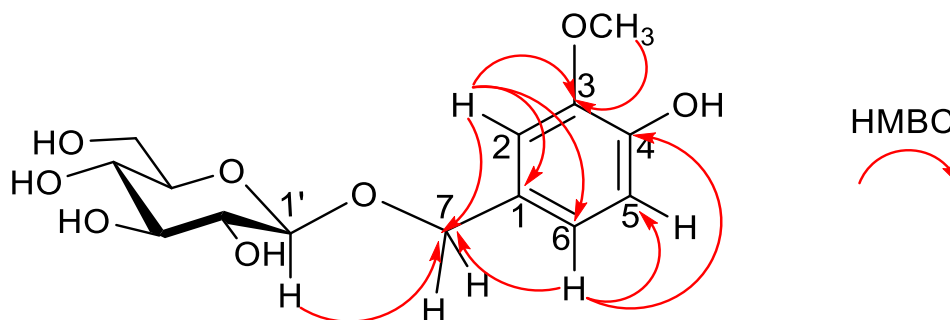


Figure III-126 : Spectre HMBC du composé Sp24.

L'analyse combinée des spectres HSQC (Figure III-127) et HMBC (Figure III-126) permet d'assigner tous les signaux des carbones de cette molécule.

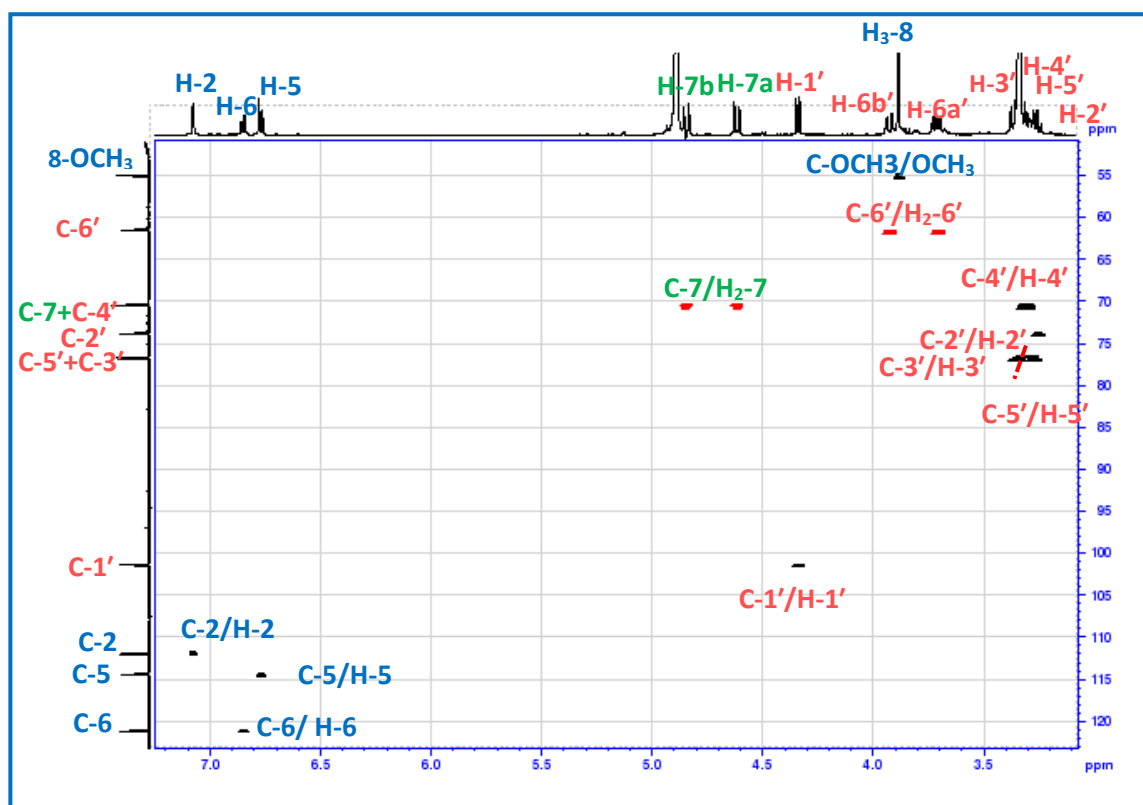
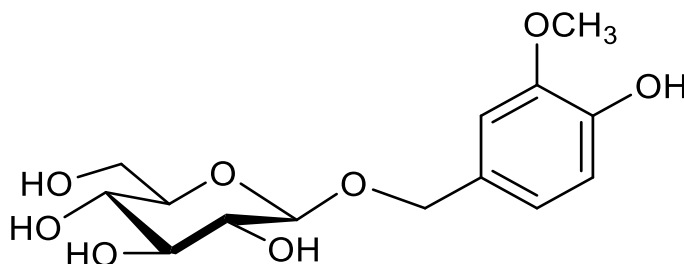


Figure III-127 : Spectre HSQC du composé Sp24.

A l'issue de cette analyse, tous les protons et carbones de **Sp24** sont attribués. L'ensemble de ces données permet d'assigner sans ambiguïté pour le composé **Sp24** la structure suivante: le **vanillyl- β -D glucopyranoside** confirmée par la comparaison avec les données de la littérature [Kanho et al., 2005].



Sp24 :vanillyl- β -D glucopyranoside

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C (Figure III-128) du composé **Sp25** sont très semblables à ceux du composé précédent **Sp24**

L'analyse combinée des spectres RMN ^1H (Figure III-128) et HSQC J -modulé (Figure III-129) du composé **Sp25** montre l'existence de:

- Trois protons aromatiques résonants à δ_{H} à 7,05 (d , $J=1,8$ Hz, H-2), 7,16 (d , $J= 8,2\text{Hz}$, H-5) et 6,90(dd , $J= 8,2-1,8$, H-6) couplant sur le spectre HSQC avec les carbones à 111,1, 116,4 et 119,3 ppm respectives
- Un sigulet large repéré à δ_{H} 4,57pp d'intégration 2H correspondant au proton H-7.
- Un signale apparu à δ_{H} 3,89 d'intégration 3H correspondant à un groupement méthoxyle.
- Un signal d'un glucose caractérisé par son proton anomérique à 4,90 ppm (d , $J= 7,4\text{Hz}$) et six protons osidiques résonant entre 3,42 et 3,88 ppm.

La seule différence notable entre le **Sp24** et **Sp25** est le blindage du carbone aliphatique C-7 à 63,5 ppm par rapport à celui du composé **Sp24** (70.3 ppm) suggérant la présence d'un CH_2OH libre.

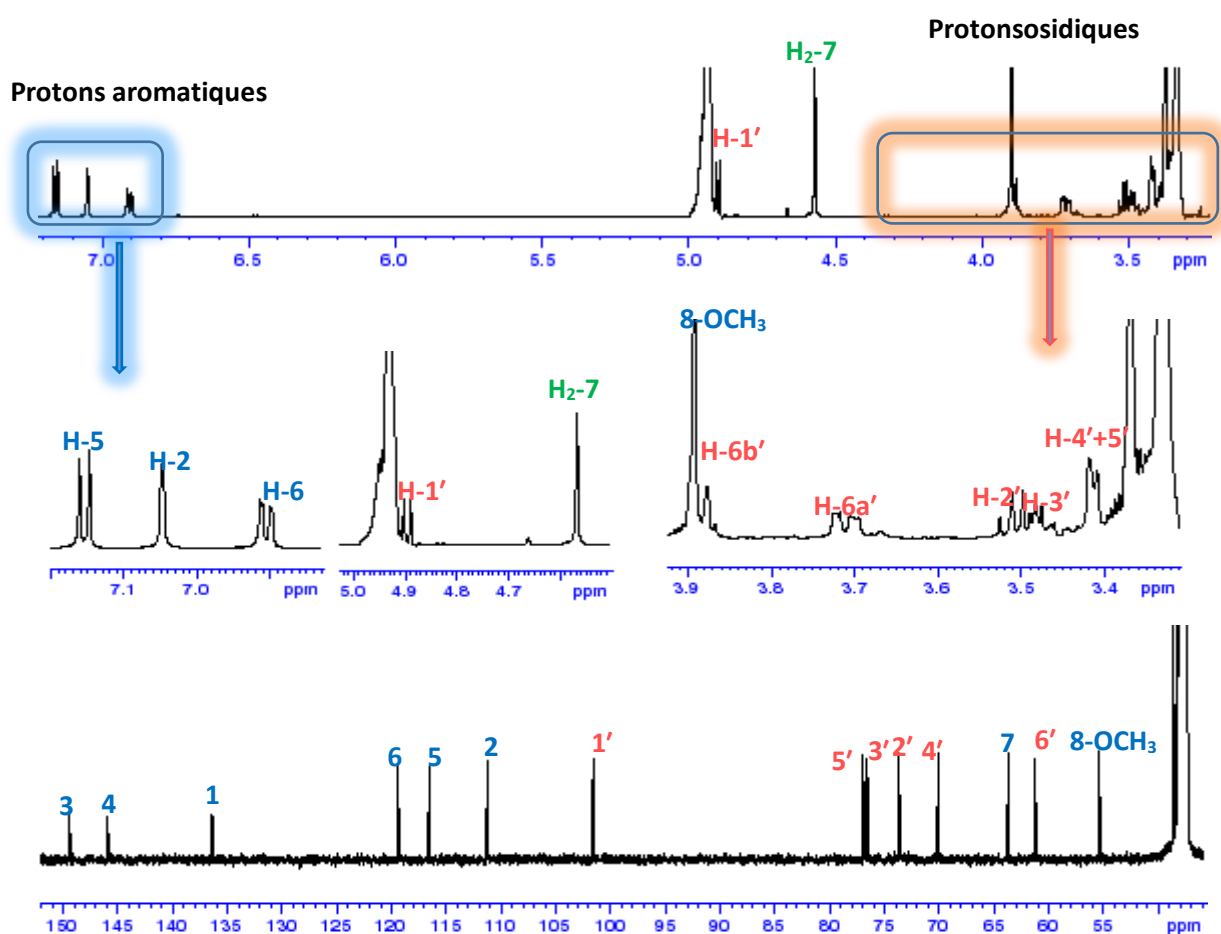


Figure III-128 : Spectre RMN ^1H et ^{13}C du composé **Sp25**.

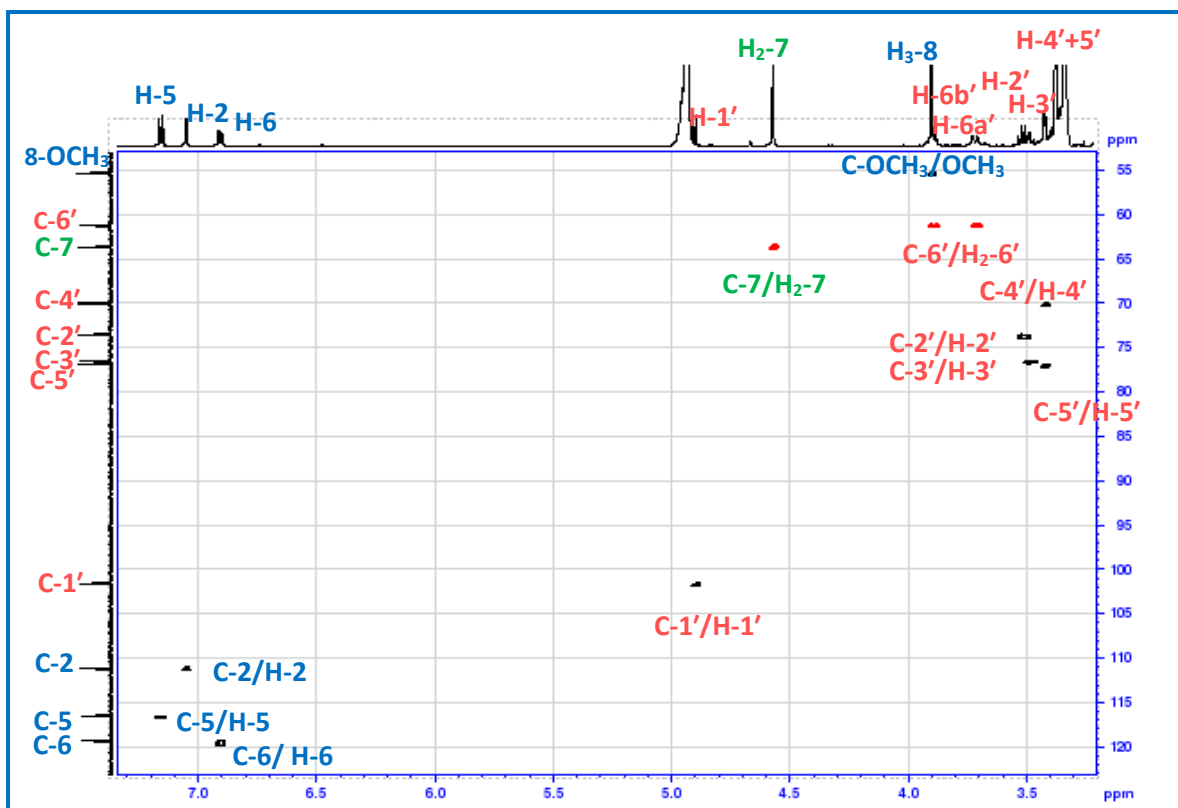


Figure III-129 : Spectre HSQC du composé Sp25.

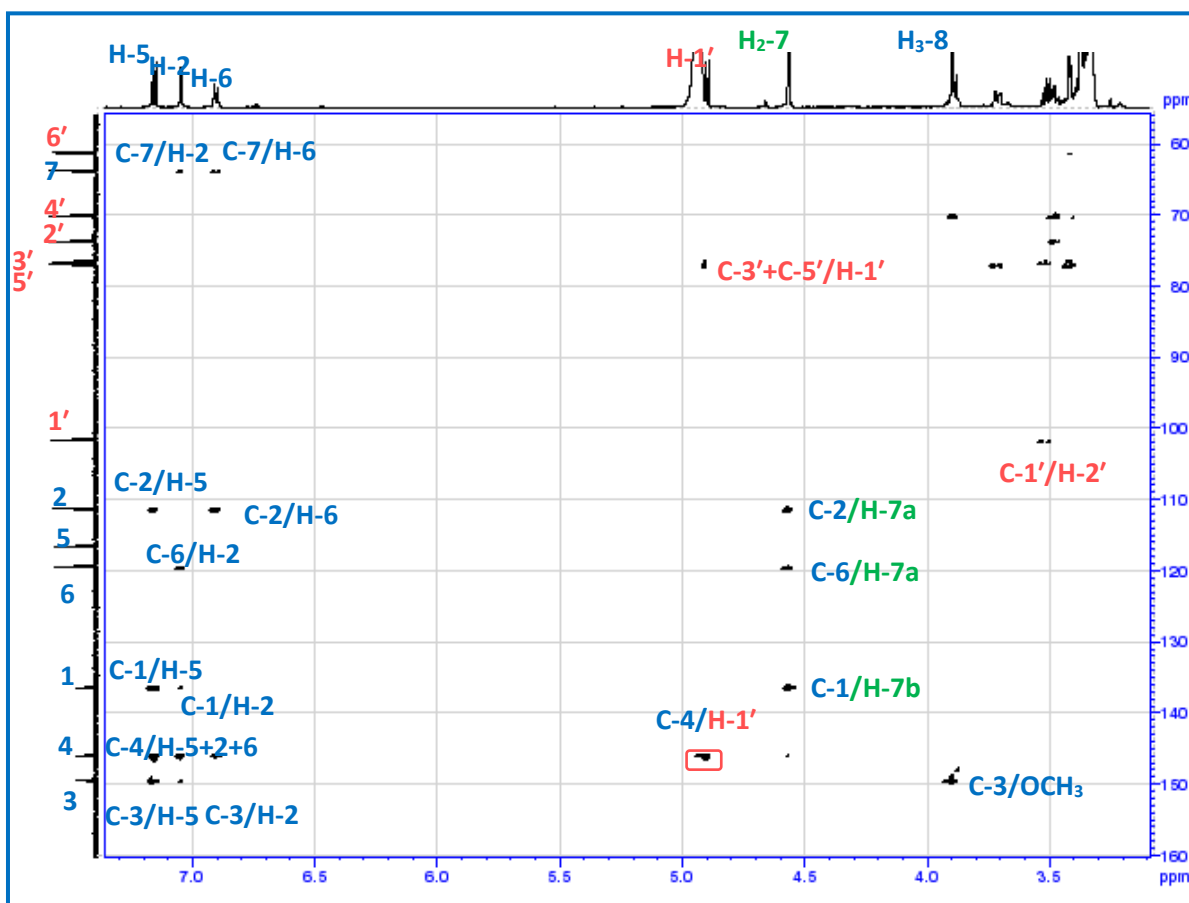
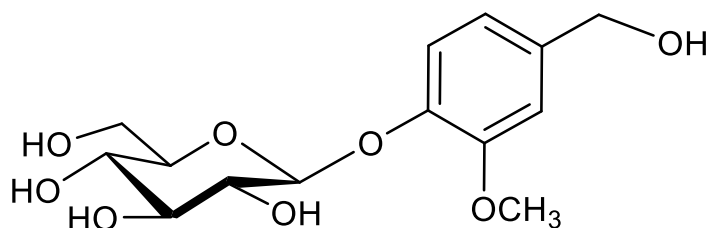


Figure III-130 : Spectre HMBC du composé Sp25.

La combinaison des données RMN ^1H et ^{13}C ainsi que les corrélations HMBC permettent de conclure que le groupement méthoxyle est situé en C-3, le glucose en position C-4 et le CH_2OH en position C-1 du noyau aromatique.

Toute cette analyse spectrale permet ainsi d'assigner la structure suivante pour le composé **Sp25**: l'alcool vanillique- 4-*O*- β -D-glucopyranoside précédemment isolé à partir de l'espèce *Helichrysum conglobatum* (Asteraceae) [El-Ghazooly et al., 2003].



Sp25: l'alcool vanillique 4-*O*- β -D glucopyranoside

Tableau III-18 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés **Sp24**, **Sp 25** dans CD_3OD .

Position	Composé Sp24		Composé Sp25	
	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)
1	128,9	-	136,3	-
2	111,9	7,07 d (1,7)	111,1	7,05 d (1,8)
3	147,5	-	149,3	-
4	145,9	-	145,8	-
5	114,3	6,76 d (8,1)	116,4	7,16 d (8,2)
6	121,0	6,84 dd (8,1-1,7)	119,3	6,90 dd (8,2-1,8)
7	70,3	4,61 d (11,3)	63,5	4,57 s
8 OCH₃	54,9	4,84 d (11,3)	55,2	3,89 s
Glc		3,88 s		
1'	101,4	4,33 d (7,8)	101,5	4,90 d (7,4)
2'	73,3	3,25 dd (8,6-7,8)	73,5	3,51 dd (9,1-7,3)
3'	76,7	3,35 t (8,6)	76,4	3,47 t (9,1)
4'	70,3	3,30 dd (9,6-8,6)	69,9	3,42 m
5'	76,6	3,28 m	76,8	3,42 m
6'	61,4	3,70 dd (11,9-5,8)	61,0	3,71 dd (12,0-4,6)
		3,92 dd (11,9-2,0)		3,88 d (12,0)

III.1.3.3 Détermination structurale du composé Sp26

Le spectre RMN ^1H (Figure III-131) du composé **Sp26** indique qu'il s'agit bien aussi d'un composé aromatique trisubstitué caractérisé par les signaux suivants :

- Trois signaux à $\delta_{\text{H}} 7,05$ ($J= 1,8$ Hz, H-2), $6,96$ ($J=8,1-1,8$ Hz, H-6) et $6,79$ ($J= 1,8$ Hz, H-5) sont typiques d'un noyau aromatique trisubstitué aux positions 1,3 et 4.
- Des signaux des protons oléfiniques à $\delta_{\text{H}} 6,28$ (H-8) et $\delta_{\text{H}} 7,46$ (H-7) avec $J= 16,0$ Hz attribués à deux protons oléfiniques de géométrie *trans*. Ces données attestent de la présence d'un groupement *p-E*-caffeoyle.
- Un singlet résonant à $3,77$ ppm attribuable à un groupement méthoxyle (OCH_3).

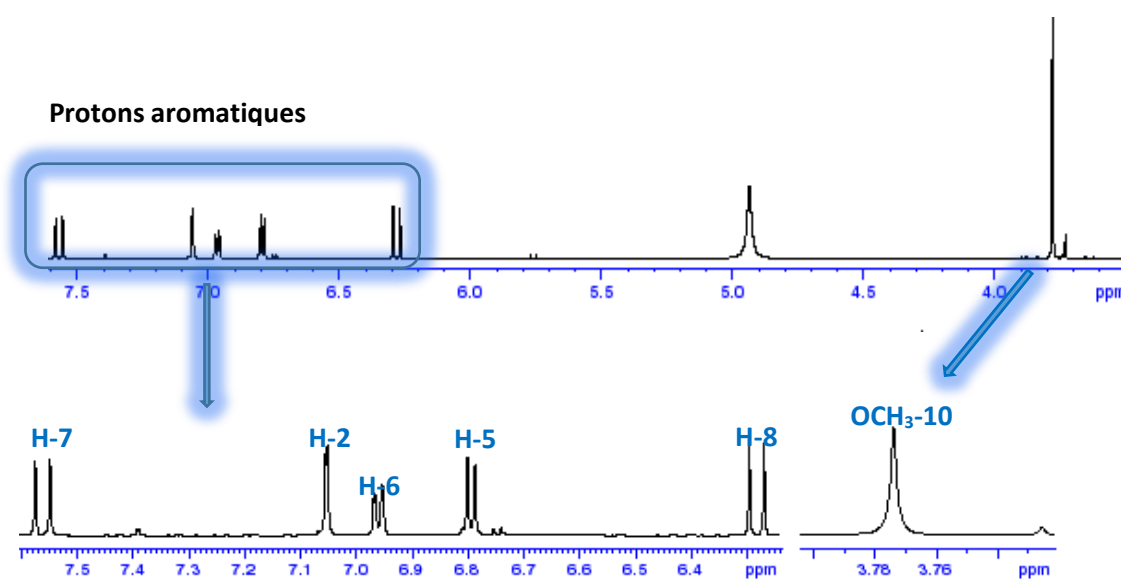


Figure III-131 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp26**.

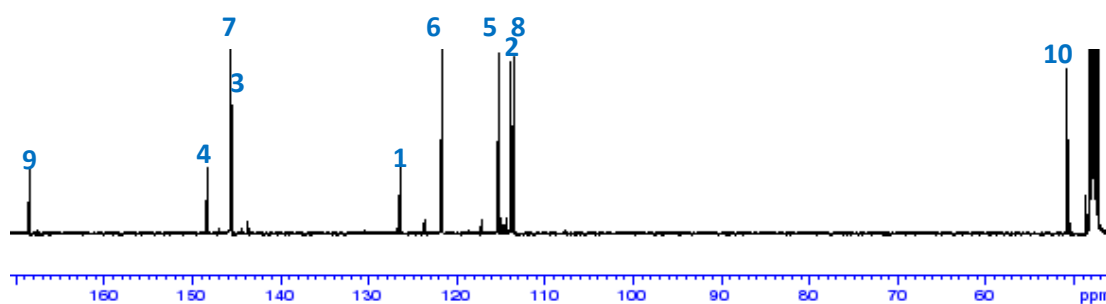


Figure III-132 : Spectre ^{13}C du composé **Sp26**.

L'analyse des spectres RMN ^{13}C et HMBC (Figures III-132 et III-133) conduit à l'identification du reste des carbones et compléter la structure :

- Le proton H-2 présente des corrélations avec C3, C-4 et C-6.
- Le proton aromatique H-5 couple avec C-6, C-1, C-3 et C-4.
- Le proton H-6, présente des corrélations avec C-2, C-5, C-7 et C-4.
- Les protons éthyléniques (H-7 et H-8) couplent avec le carbonyle à δ_{C} 168,3 ppm et le carbone quaternaire à δ_{C} 126,4 ppm attribuables aux C-9 et C-1, respectivement.
- Les protons H₃ du groupement méthoxyle corrèle avec le carbonyle C-9 indique la présence d'un ester.

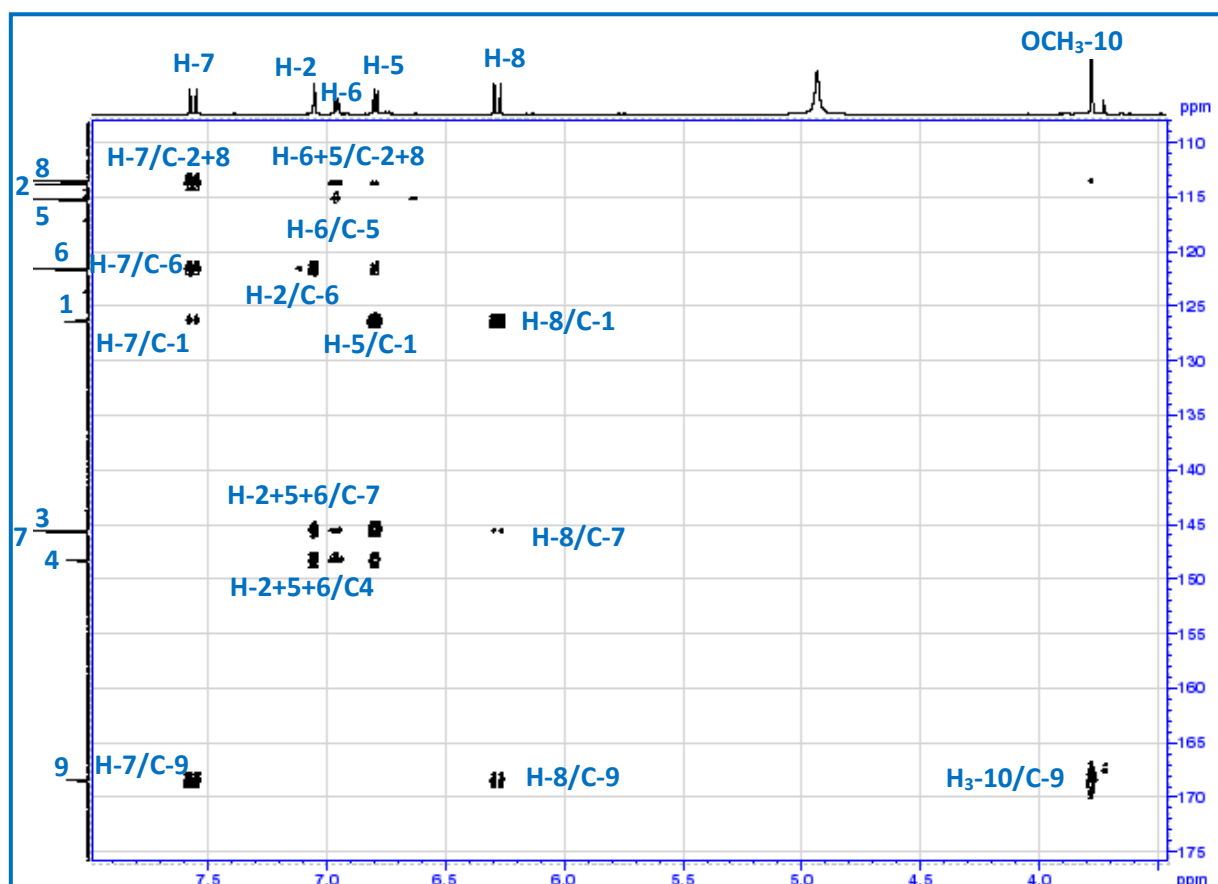
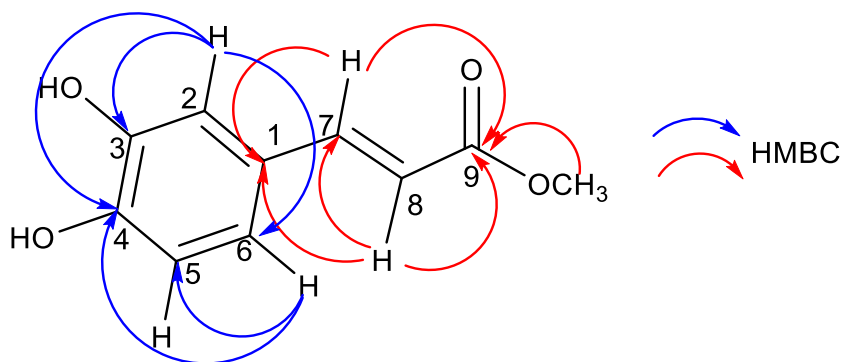
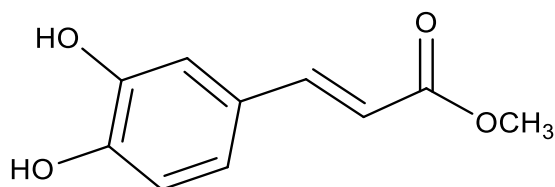


Figure III-133 : Spectre HMBC du composé Sp26.

Suite à cette analyse spectroscopique et la comparaison avec les données de la littérature [Rani et Devanan.,2013], le composé **Sp26** est identifié comme étant l'Acide caféique méthyle ester. On note ici que l'Acide caféique méthyle ester est purifié déjà à partir du fruit de l'espèce de *Solanum torvum Swartz* (Solanaceae) et il possède un très bon effet hypoglycémiant [Gandhi et al.,2011] et anti cancéreux [Balachandran et al., 2015].



Sp26 : Acide caféique méthyle ester

Tableau III-19 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) des composés **Sp26** dans CD_3OD .

Position	Composé Sp26	
	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)
1	126,4	-
2	113,7	7,05 d (1,8)
3	145,4	-
4	148,2	-
5	115,1	6,79 d (8,1)
6	121,5	6,96 dd (8,1-1,8)
7	145,5	7,56 d (16,0)
8	113,4	6,28 d (16,0)
9	168,3	-
10 OCH₃	50,6	3,77 s

III.1.3.4 Détermination structurale du composé Sp27

L'analyse du spectre RMN ^1H (Figure III-134) du composé **Sp27** indique l'existence des signaux suivants :

- Un seul signal dans la zone aromatique à δ_{H} 6,48 (2H, *s*), attestant la présence d'un noyau aromatique symétrique tétrasubstitué.
- Deux singulets, l'un résonne à δ_{H} 3,73 ppm intégrant pour trois protons d'un groupement méthoxyle et l'autre à 3,84 ppm intégrant pour six protons de deux groupements méthoxyles identique.
- Deux signaux correspondant à deux protons anomériques résonnants à δ_{H} 4,82 et 4,99 ppm.
- Plusieurs signaux de protons osidiques résonnants entre 3 et 4 ppm indiquent la présence de plus d'une unité osidique.

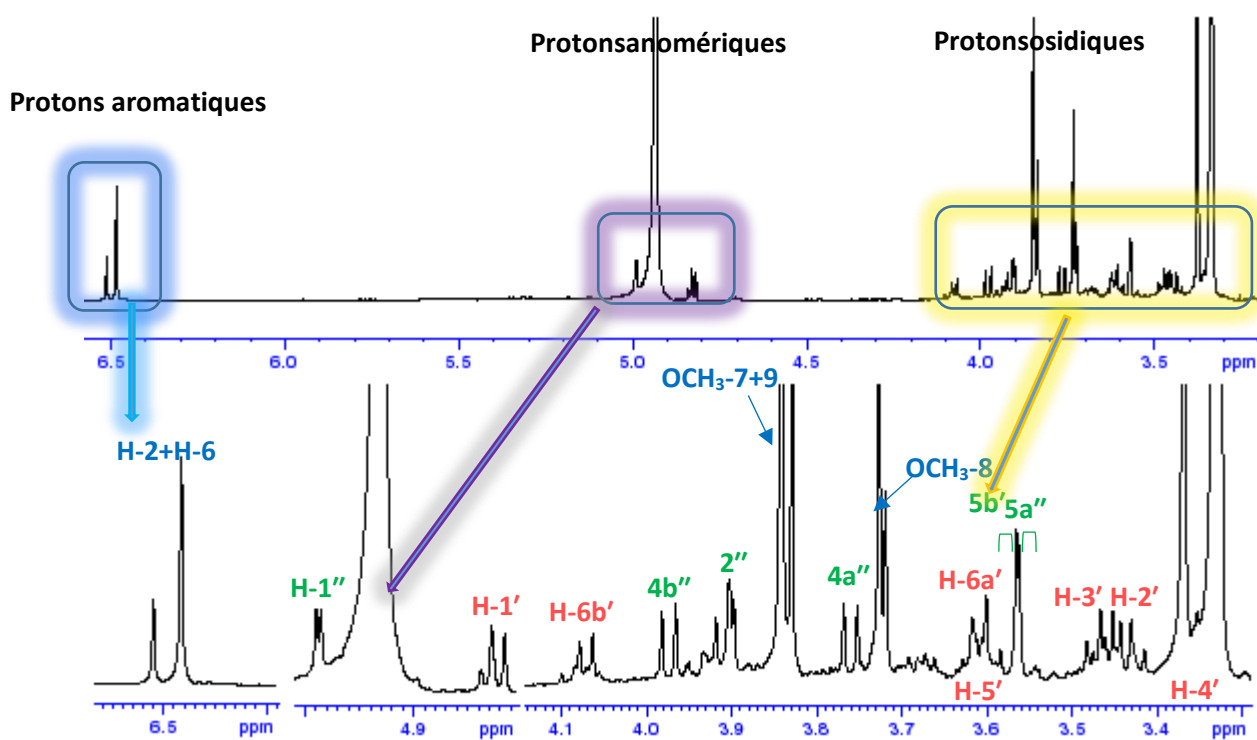


Figure III-134 : Spectre RMN ^1H du composé Sp27.

En plus des carbones aromatiques le spectre RMN ^{13}C (Figure III-135) montre également des carbones osidiques dont les deux anomères résonnent à δ_{C} 101,7 et 109,4 ppm et trois carbones assignés aux groupements méthoxyles à δ_{C} 55,2 (2 OCH₃) et 59,8 ppm (1 OCH₃). Ceci indique la présence d'une partie aglycone triméthoxylé et une partie osidique constituée de deux sucres.

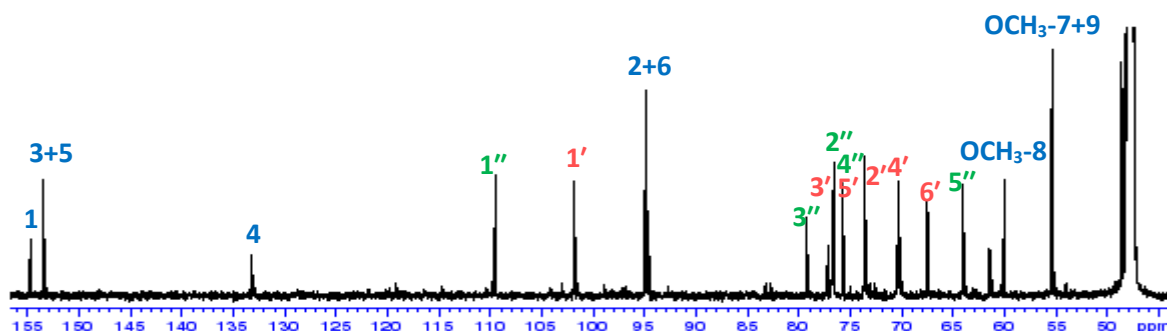


Figure III-135 : Spectre RMN¹³C du composé Sp27.

L'analyse combinée des spectres RMN COSY, HMBC et HSQC a permis de caractériser les protons et carbones de l'aglycone et de la partie osidique.

Les corrélations HMBC (Figure III-136) observées sur le spectre entre les deux protons aromatiques H-2 et H-6 à δ_H 6,48 ppm et les carbones C-1, C-3+5 et C-4 du noyau aromatique ainsi qu'entre les protons des méthoxyles et les carbones aromatiques à δ_C 133,1 (C-4) et 153,4 ppm (C-3 et C-5) ont permis d'identifier ce noyau comme étant le 3,4,5-triméthoxyphénol. L'attribution des méthoxyles en position 3,4 et 5. Cette attribution est confirmée d'un côté par le déblindage du carbone C-1 à δ_C 154.6 ppm [Pamar et al., 1996] et d'autre part la valeur de déplacement chimique du méthoxyle lié au carbone C-4 égale à 59,8 ppm exigeant une ortho-substitution du noyau aromatique [Kuroyanagi et al., 1987].

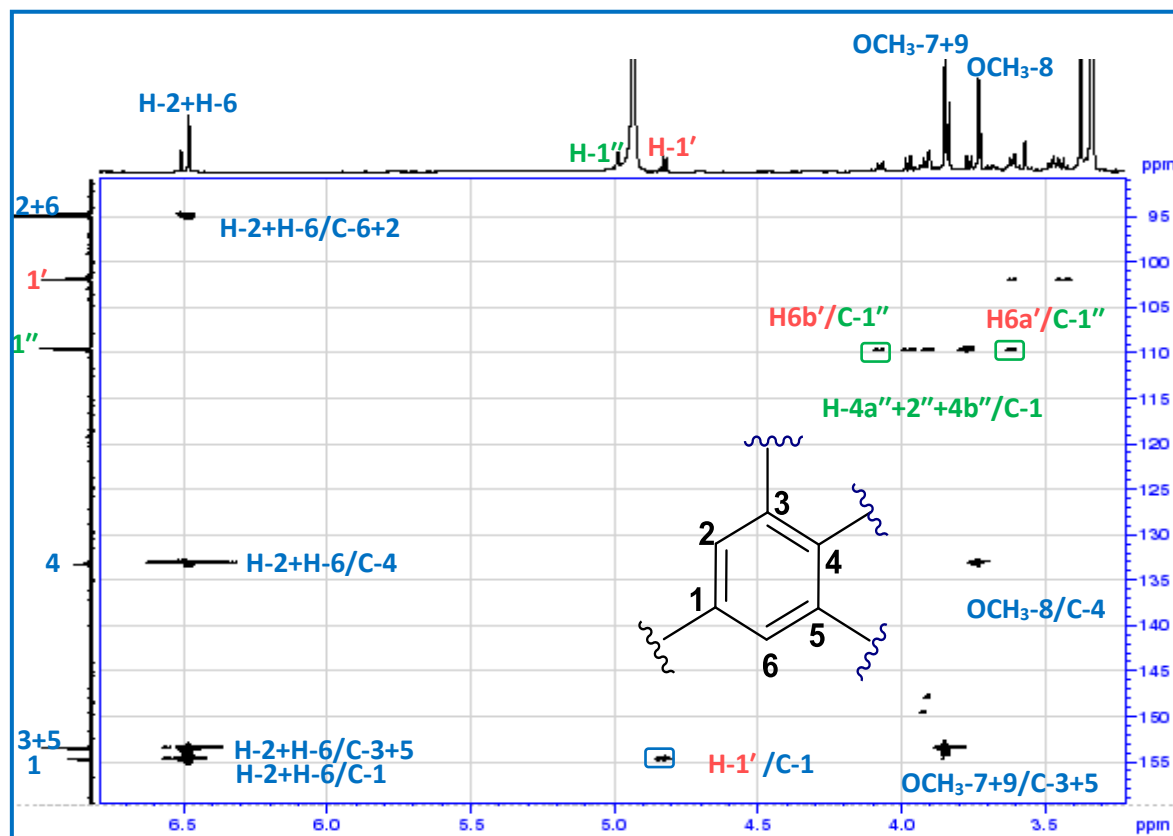


Figure III-136 : Spectre HMBC [3.0-6.8, 90-160] du composé Sp27.

La partie osidique du composé **Sp27** est déterminé d'après les corrélations observées sur le spectre COSY (Figure III-137) à partir des protons anomériques à un β -D glucose et un β -D apiose.

A partir du proton anomérique H-1' à δ_H 4,82 ppm les six protons d'un hexose sont localisés ;H-2' à 3,43 ppm (*dd*, $J=9,2$ Hz), H-3' à 3,47 ppm (*t*, $J= 9,2$ Hz) ,H-4' à 3,33 ppm (*m*),H-5' à 3,61 ppm (*m*) et H_{a,b}-6' à 3,61ppm (*d*, $J=9,9$ Hz) et à 4,07 ppm (*d*, $J=9,3$). Les constantes de couplage et les déplacements chimiques des carbones attestent la présence un β -D glucose. Les valeurs des déplacements chimique des protons et carbones du groupement oxyméthylène CH₂-6' à δ_H 4,07 et 3,61/ δ_C 67,3 indiquent que l'hydroxyle OH-6' n'est pas libre (Tableau III-20).

Un autre système de spin est identifié à partir du deuxième proton anomérique H-1'' qui résonne à δ_H 4,99 ppm (*d*, $J = 2,6$ Hz). Sur le spectre COSY est à partir du proton anomère on attribue qu'un seul proton, le proton H-2'' à 3,90 ppm (*d*, $J=1.0$ Hz), ce qui suggère un carbone quaternaire en position 3. Nous observons aussi deux systèmes AB à 3,76 (*d*, $J= 9,7$ Hz) et 3,97 (*d*, $J = 9,7$ Hz) et à 3,55 (*d*, $J = 11,4$ Hz) et 3,57 ppm (*d*, $J =11,4$ Hz) dont leurs carbones correspondants sont localisés à partir du spectre HSQC à 73,5 et 63,9 ppm indiquent la présence de deux oxyméthylènes, le premier fait partie d'un cycle (73,5, C-4) [Barclay et al.,2012] et le deuxième hors du cycle (63,9, C-5) caractéristiques des pentafuranoses.

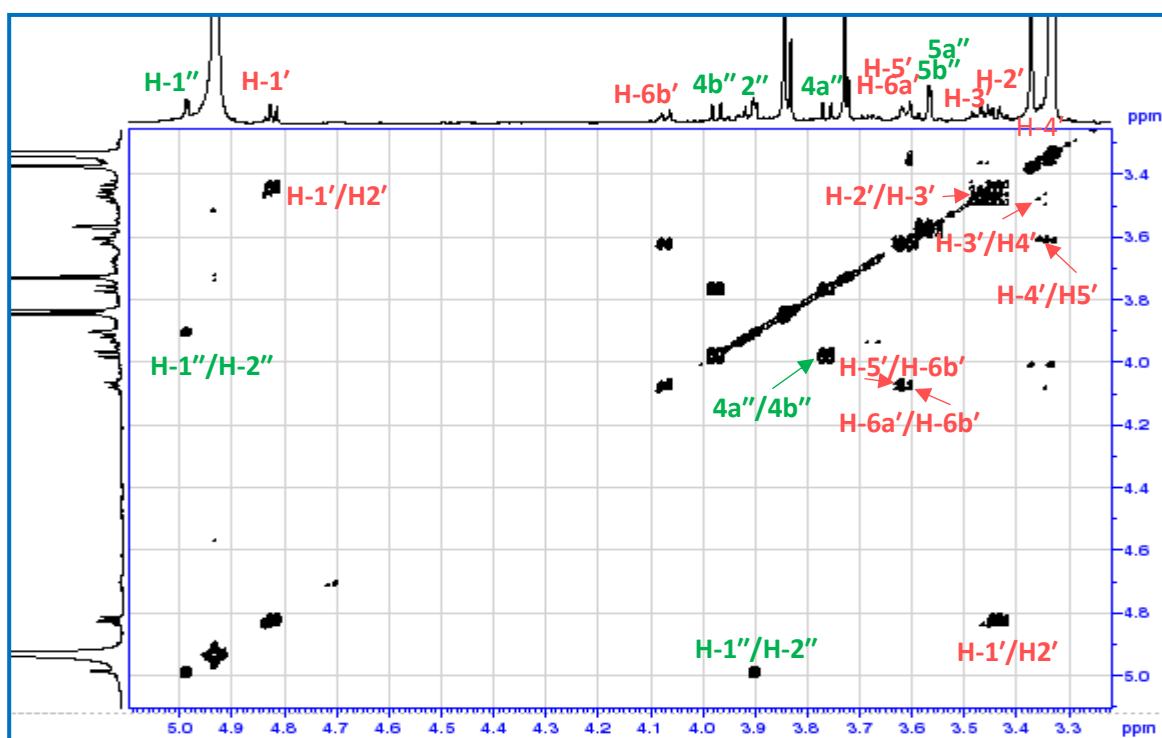


Figure III-137 : Spectre COSY du composé **Sp27**.

Sur le spectre HMBC (Figure III-138) le proton H-4'' présente des corrélations avec le carbone C-5 du CH₂OH et avec le carbone quaternaire C-3 situé à 79,1 ppm. La comparaison des déplacements chimiques δ_C des carbones correspondants à ces protons (à l'aide du spectre HSQC) avec ceux rapportés dans la littérature confirme la présence d'un β -D-apiose terminal [Thao et al., 2016].

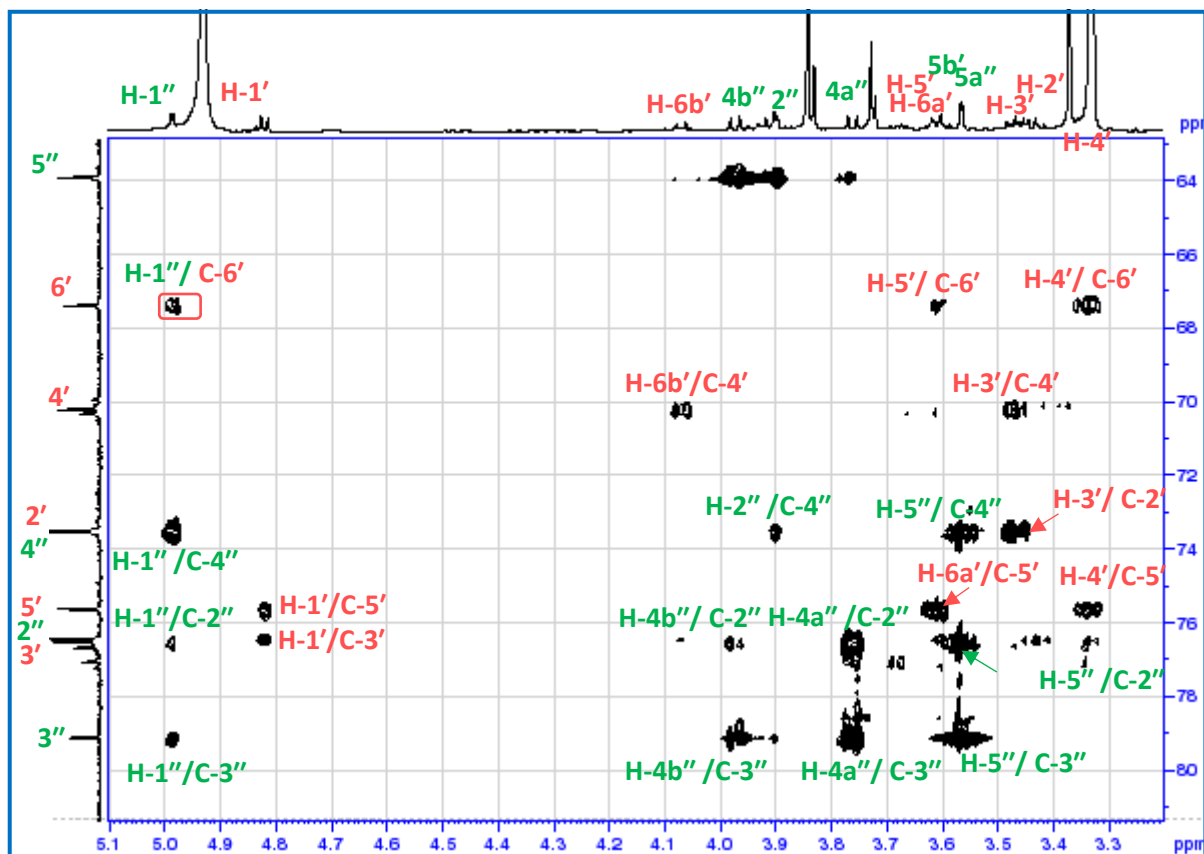
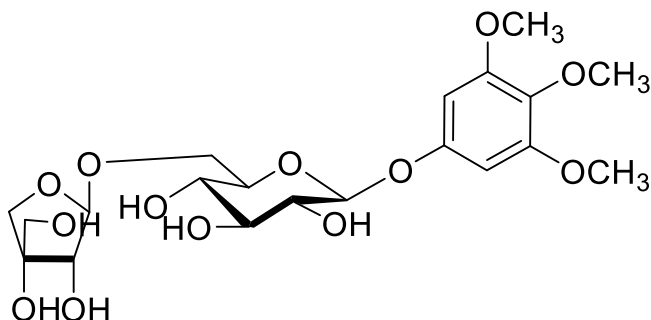


Figure III-138 : Spectre HMBC [3.2-5.1, 63-81] du composé Sp27.

L'enchaînement diosidique est établi après l'analyse du spectre HMBC sur lequel sont visualisées les corrélations $^3J_{H-C}$ suivantes :

- H-1'' Api / C-6' Glc.
- H-1' Glc / C-1 du noyau aromatique.

L'analyse des spectres de RMN¹H, ¹³C, HSQC et HMBC de Sp27. montre que ce composé est identique point par point au 3,4, 5-Trimethoxyphenyl 1-O- β -D-apiofuranosyl (1'' \rightarrow 6')- β -glucopyranoside [Kanchanapoom et al., 2002 ; Qingwei et al., 2012].



Sp27 : 3,4, 5-Trimethoxyphenyl 1-*O*- β -D-apiofuranosyl (1'' \rightarrow 6')- β -glucopyranoside.

Tableau III-20 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **Sp27** dans CD_3OD .

Position	Composé Sp27	
	δ_{C}	δ_{H} m(J en Hz)
1	154,6	-
2	94,8	6,48 s
3	153,4	-
4	133,1	-
5	153,4	-
6	94,8	6,48 s
7 OCH3	55,2	3,84 s
8 OCH3	59,8	3,73 s
9 OCH3	55,2	3,84 s
Glc		
1'	101,7	4,82 d (7,5)
2'	73,5	3,43 dd (9,2-7,5)
3'	76,6	3,47 t (9,2)
4'	70,2	3,33 m
5'	75,6	3,61 m
6'	67,3	3,61 d (9,3) 4,07 d (9,3)
Apio		
1''	109,4	4,99 d (2,6)
2''	76,5	3,90 d (1,0)
3''	79,1	-
4''	73,5	3,76 d (9,7) 3,97 d (9,7)
5''	63,9	3,55 d (11,4) 3,57 d (11,4)

La purification des sous -fractions de VLC **A** et **B** de les parties aériennes de *Scabiosa semipapposa* a permis de séparer quatre flavonoïdes de structure connues (**Sp28-Sp33**) et deux iridoïdes **Sp17** (sweroside) et **Sp18** (loganine) (**Figure III-139**) rencontrés dans la partie racine dont les structures sont élucidées précédemment.

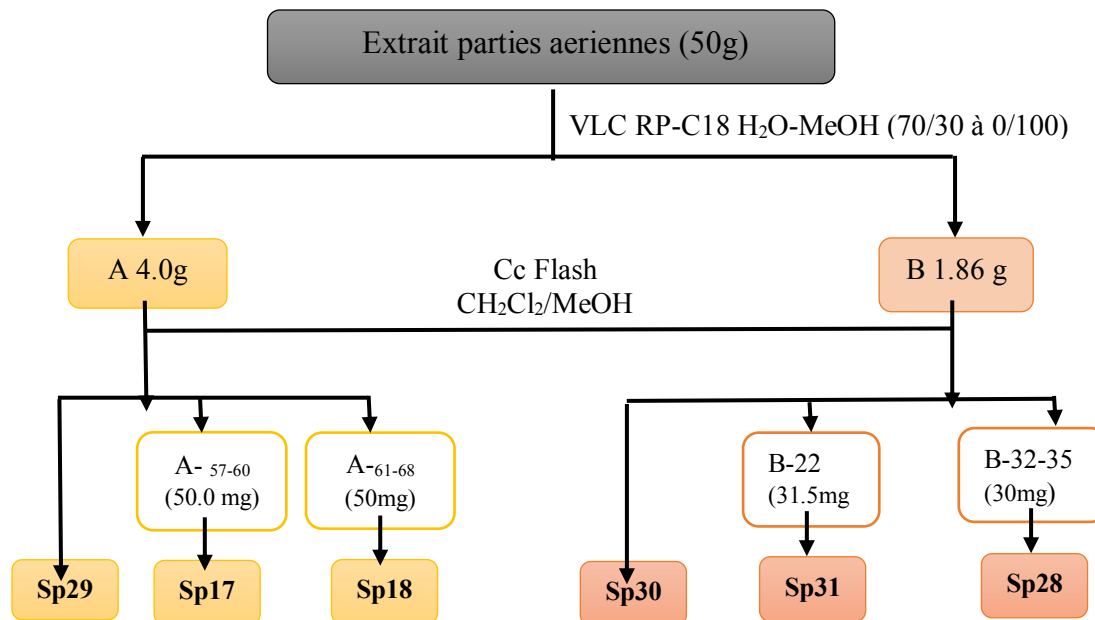


Figure III-139 : Schéma de purification des parties aériennes de *S.semipapposa*.

III.1.4 Elucidation structurale des flavonoïdes

III.2.1 Détermination structurale du composé Sp28.

L'analyse du spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Sp 28** (**Figure III-140**) présente l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 741,1823 (calculé 741,1819) correspond à une formule brute de $C_{39}H_{32}O_{15}$.

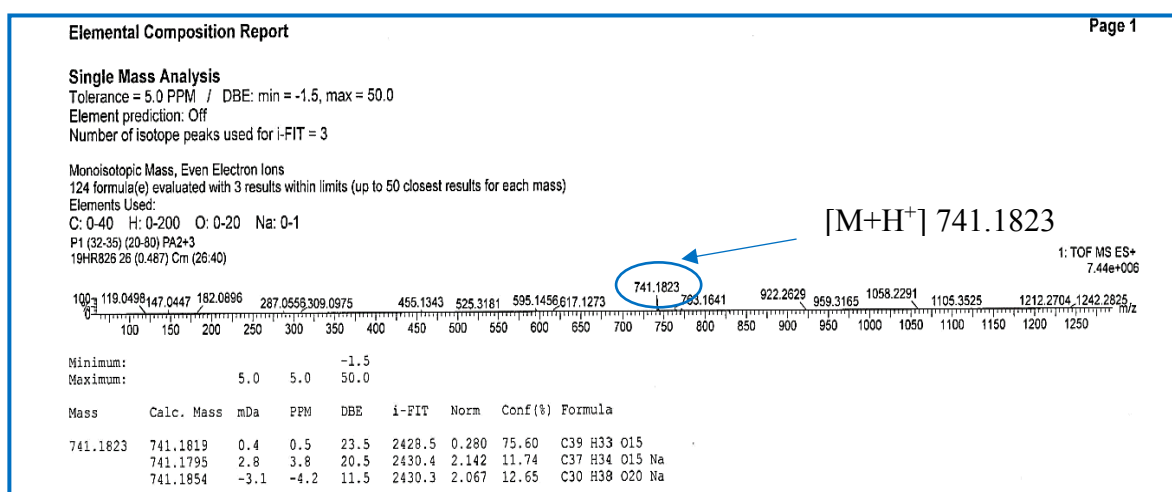


Figure III-140 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Sp28**.

Le spectre RMN ^1H (Figure III-141) du composé **Sp28** montre la présence de quatre signaux resonant pour six protons caractéristiques de la génine kaempférol :

-Deux signaux déblindés s'intégrant pour deux protons chacun sous forme de deux doublets srésonant à δ_{H} 8,02 (2H, *d*, $J = 8,8$ Hz) et 6,86 (2H, *d*, $J = 8,8$ Hz), attribuables aux protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' du cycle B para-substitué.

-Deux signaux à δ_{H} 6,16 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz) et δ_{H} 6,32 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz) attribuables respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A du flavonoïde substitué en positions 5 et 7.

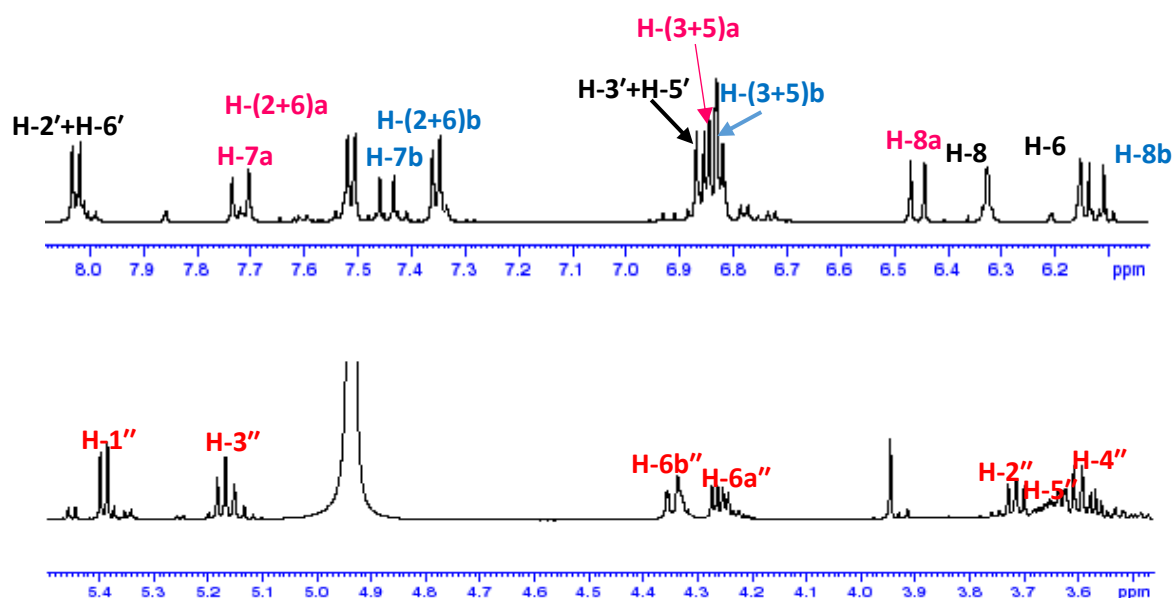


Figure III-141 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp28**.

La nature de ce composé est mise en évidence une fois de plus par l'analyse du spectre RMN ^{13}C (Figure III-142) qui révèle l'existence d'un nombre important de signaux entre 93 et 178 ppm attribués aux carbones aromatiques de ce flavonoïde.

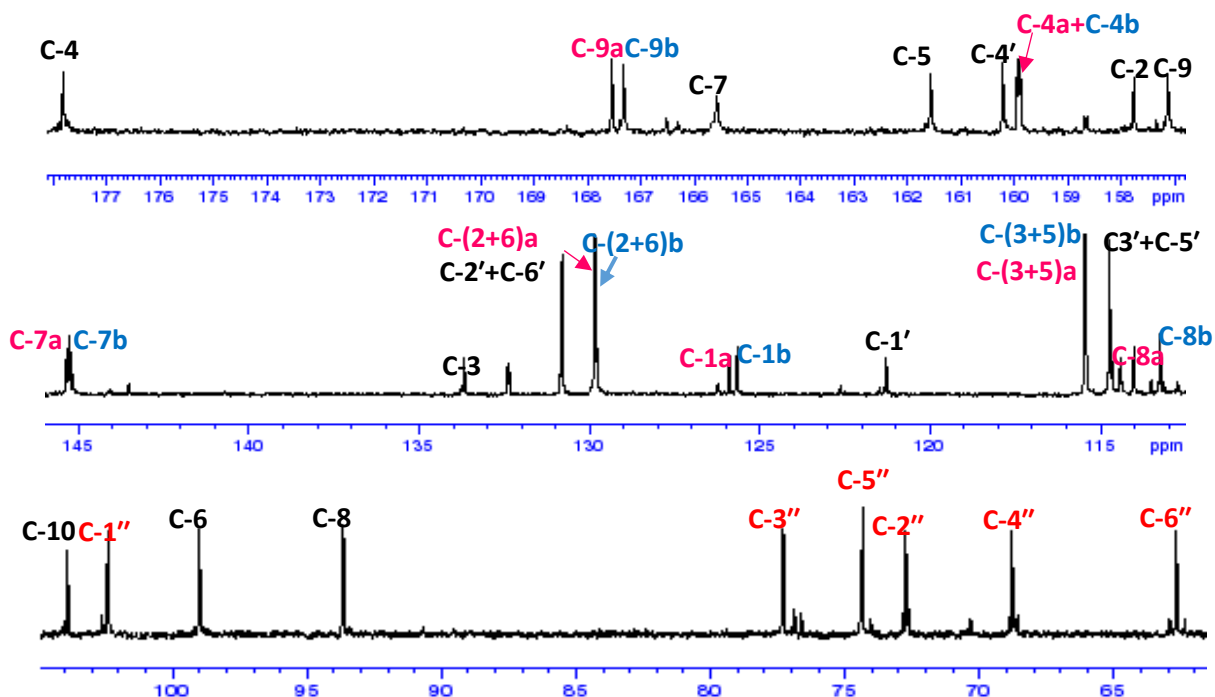


Figure III-142 : Spectre RMN ^{13}C du composé Sp28.

L'analyse du spectre ^{13}C et HSQC (Figure III-143) a permis de localiser le carbonyle C-4 ($\delta_{\text{C}}177,8$) et les carbones C-2'+C6' ($\delta_{\text{C}}130,8$), C-3'+C-5' ($\delta_{\text{C}}114,7$), C-6 ($\delta_{\text{C}}98,9$) et C-8 ($\delta_{\text{C}}93,6$) à partir de leurs protons cités précédemment.

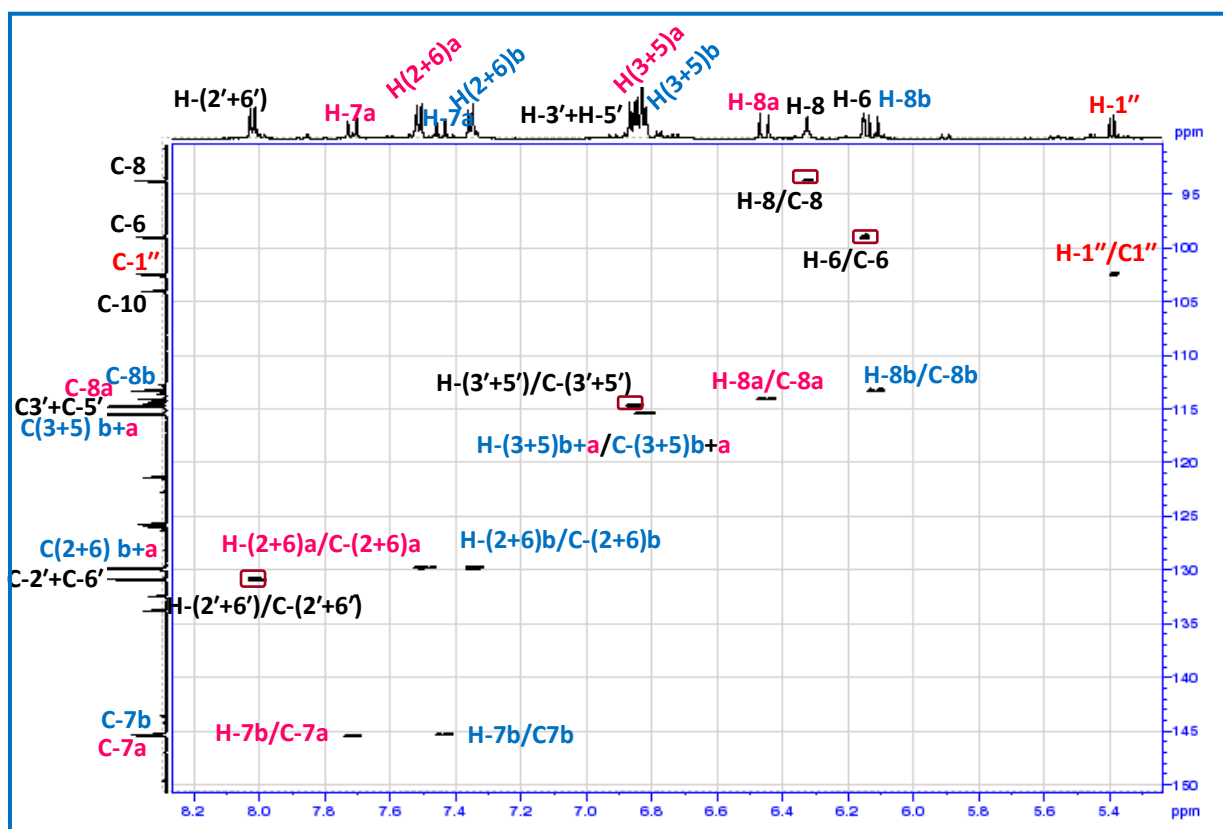


Figure III-143: Spectre HSQC [5.3-8.2, 90.0-150.0 ppm] du composé Sp28.

Sur le spectre HMBC (Figure III-144, III-146) les protons H-6 et H-8 corrélient avec les carbones C-7 ($\delta_C 167,3$) et C-10 ($\delta_C 103,9$). Le proton H-6 corrélie avec le carbone C-5 ($\delta_C 161,5$) et le proton H-8 corrélie avec le carbone C-9 ($\delta_C 157,1$). De même pour le cycle B les corrélations des protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' conduits à localiser les carbones C-2 ($\delta_C 157,7$) et C-4' ($\delta_C 160,2$). Le dernier carbone non identifié sur le spectre ^{13}C est attribué au carbone quaternaire C-3 ($\delta_C 133,6$).

L'ensemble des données spectrales obtenues à partir des spectres 2D HSQC et HMBC et la comparaison de nos données avec celles de la littérature nous ont permis d'identifier la génine comme étant le kaempférol [Brasseur et al.,1986].

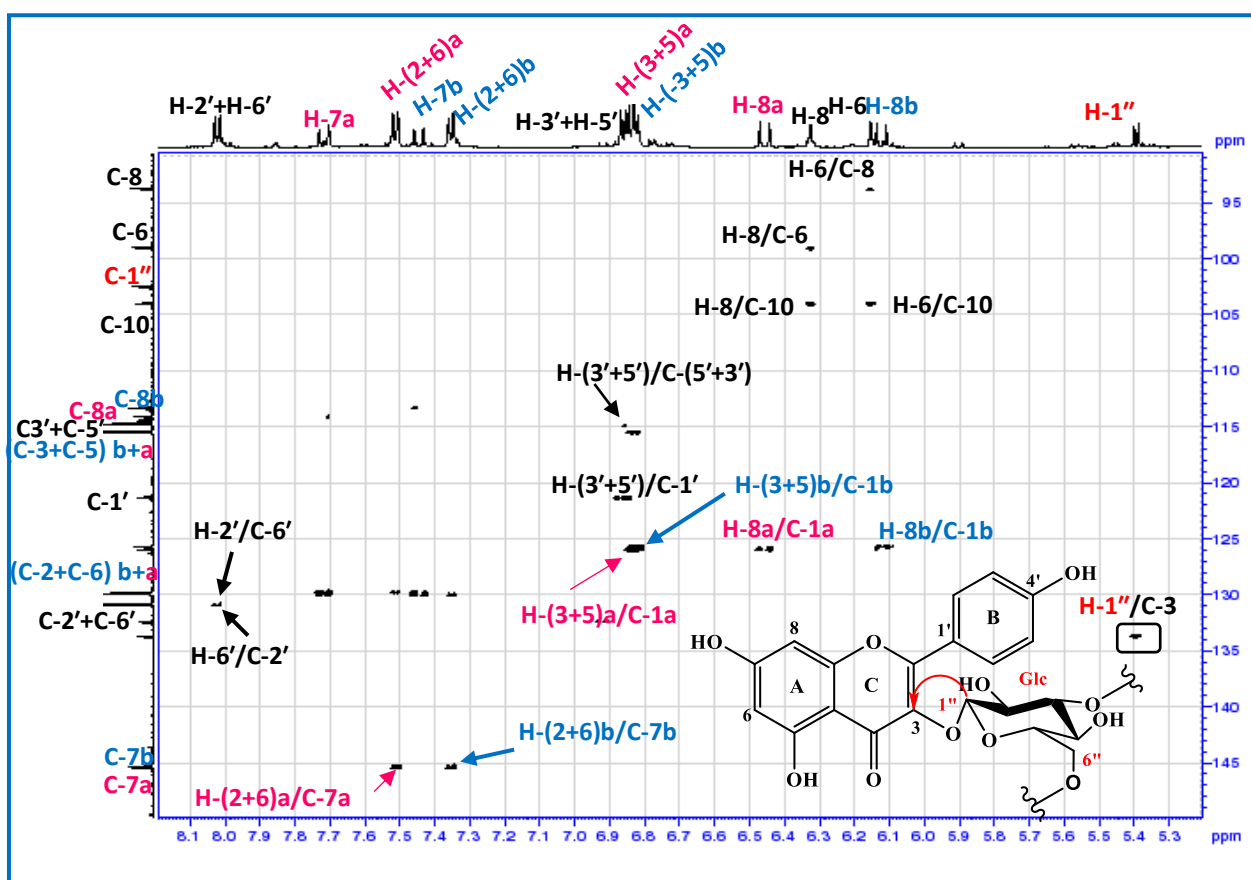
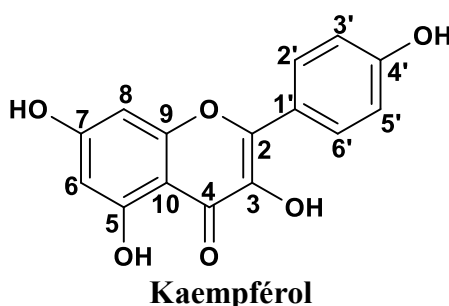


Figure III-144 : Spectre HMBC [5.2-8.2, 90.0-148.0 ppm] du composé Sp28.

En dehors des signaux correspondants à la génine, l'analyse du spectre de RMN ^1H permet de repérer un proton anomérique résonnant à 5,40 ppm (d , $J=7.8\text{Hz}$). Ces données suggèrent la présence d'une seule unité osidique.

A partir de ce proton anomérique l'expérience COSY (Figure III-145) permet de mettre en évidence la présence de sept protons d'un hexose. Les constantes de couplage vicinales, mesurées à partir du spectre de RMN ^1H , entre les protons H-1'' et H-2'', H-2'' et H-3'', H-3'' et H-4'' et H-4'' et H-5'' (Tableau III-21) sont toutes supérieures à 7 Hz, ce qui indique qu'ils sont tous trans-diaxiaux. Ceci est caractéristique d'un β -D-glucose.

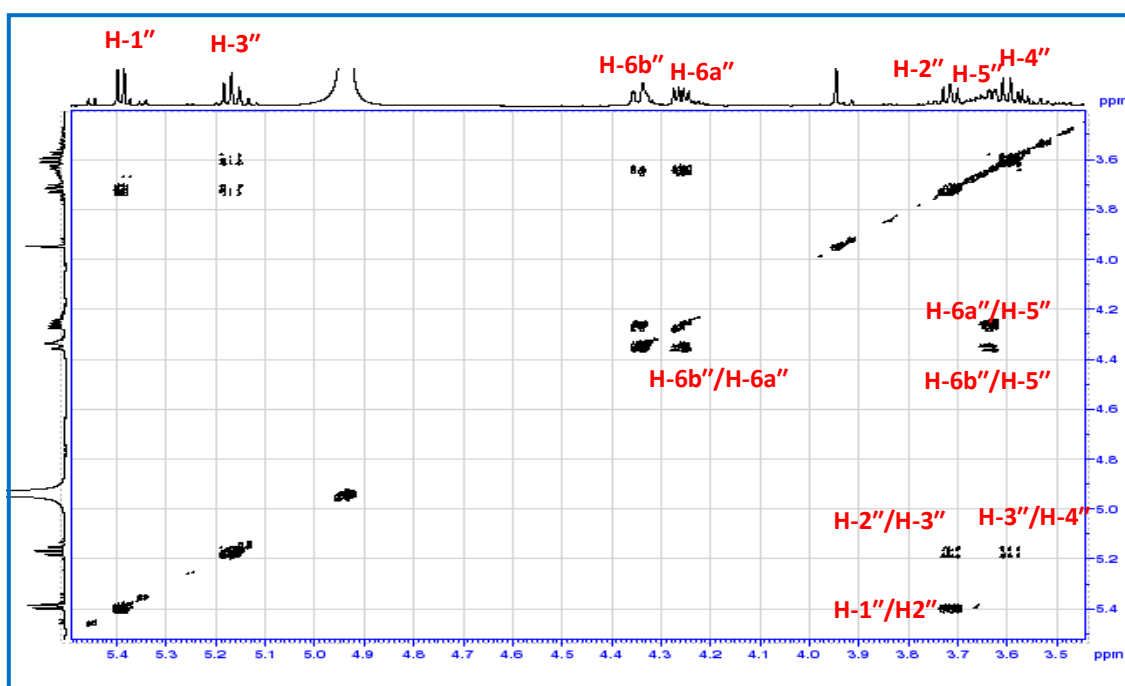


Figure III-145 : Spectre COSY de la zone osidique du composé **Sp28**.

Le glucose est fixé sur la génine kaempférol en position 3 comme l'atteste la corrélation HMBC (Figure III-146) entre le carbone C-3 et le proton anomérique H-1'' du glucose.

En plus des signaux de la génine et du sucre, le spectre de RMN ^1H du composé **Sp28** montre d'autres signaux aromatiques :

-Quartets doublets à δ_{H} 7,50 (2H, d , $J = 8,6\text{Hz}$), δ_{H} 7,35 (2H, d , $J = 8,6\text{ Hz}$), δ_{H} 6,84 (2H, d , $J = 8,6\text{ Hz}$) et δ_{H} 6,82 (2H, d , $J = 8,4\text{ Hz}$) caractéristiques de deux noyaux aromatiques para-substitués, correspondants aux protons H-2a/H-6a, H-2b/H-6b, H-3a/H-5a et H-3b/H-5b respectivement.

-Quatre doublets attribuables aux protons éthyléniques à δ_H 6,12 (H-8b, $d, J=16,0\text{Hz}$), δ_H 6,45 (H-8a, $d, J=16,0\text{Hz}$) et δ_H 7,45 (H-7b, $d, J=16,0\text{Hz}$) et δ_H 7,72 (H-7a, $d, J=16,0\text{Hz}$). La valeur de la constante de couplage ($J=16,0\text{ Hz}$) entre leurs doublets est caractéristique d'une double liaison de configuration *trans*. Ces signaux indiquent la présence de deux groupements *p*-coumaroyl. Le déblindage des protons H-3'' (δ_H 5,17) et H-6'' [H-6''a (δ_H 4,26), H-6''b (δ_H 4,34)] du β -D-glucose indique que les carbones C-3'' et C-6'' sont acylés par les groupements coumaroyl.

La corrélation en HMBC entre H-6'' et C-9b indique que le carbone C-6'' est acylé par un groupement coumaroyl. De même, un carbonyle résonant à δ_C 167,5 ppm (C-9a) corrèle avec les protons le proton H-3'' du glucose confirme l'attachement du deuxième groupement coumaroyl en C-3'' du glucose (Figure III-146).

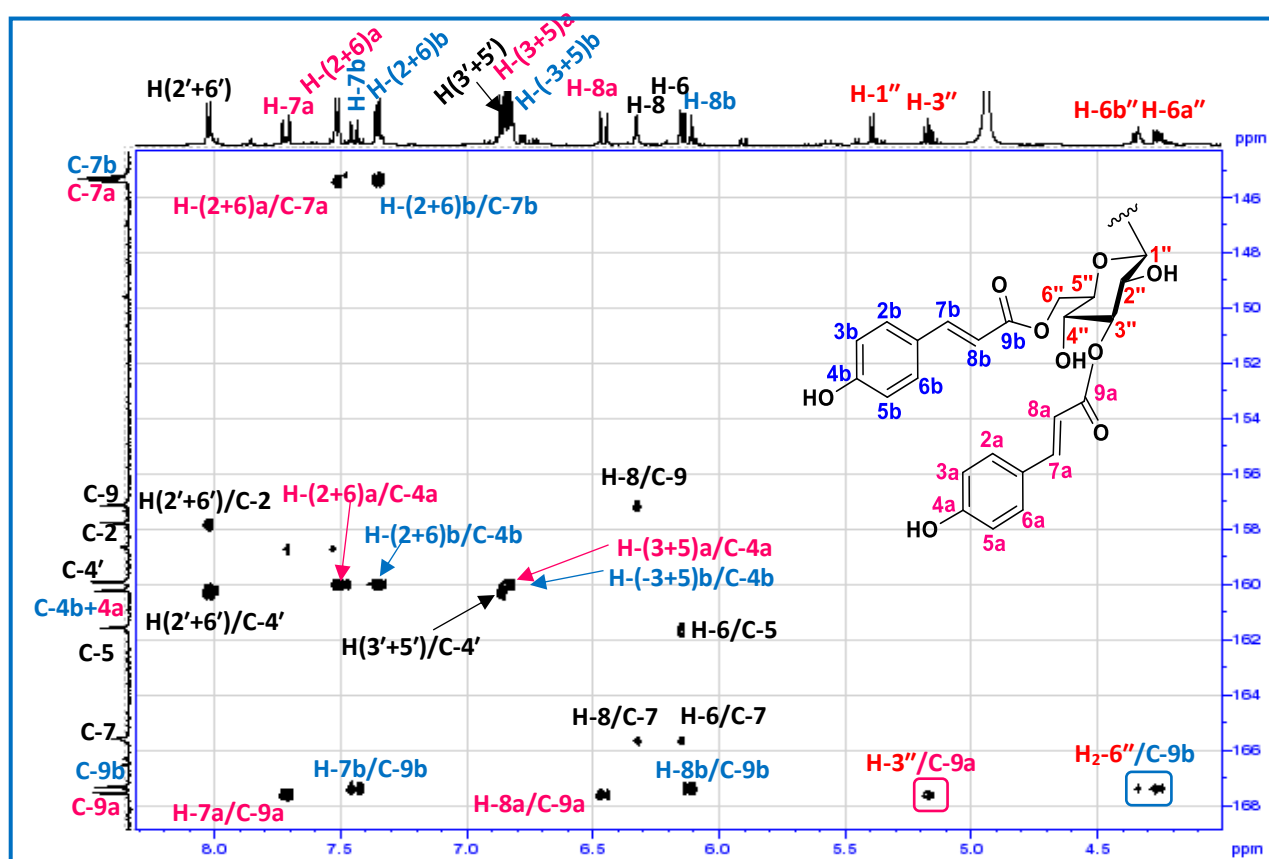
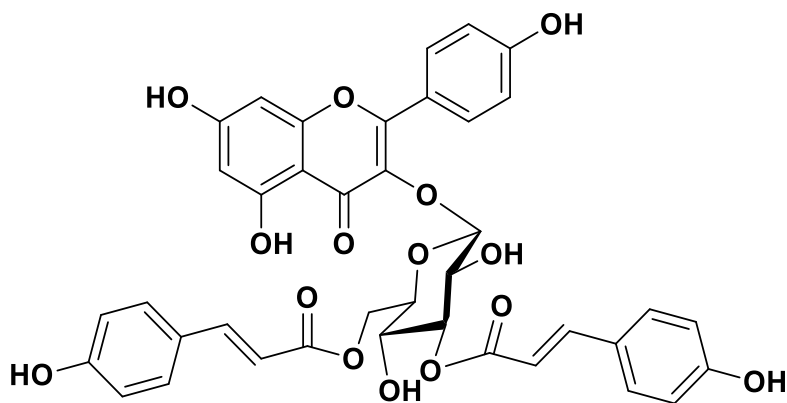


Figure III-146 : Spectre HMBC [4.0-6.3, 14.0-167.0 ppm] du composé Sp28.

L'ensemble de ces données spectrales ainsi que la comparaison avec les données trouvées dans la littérature, nous permettent de déterminer la structure du composé Sp28 comme étant le kaempférol 3-*O*-(3'',6''-di-*O*-*E*-*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside ou Ditolioside [Yang et al., 2010].



Sp28 : Kaempférol 3-*O*-(3'',6''-di-*O*-*E*-*p*-coumaroyl)- β-*D*-glucopyranoside (Ditilioside)

Tableau III-21: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **Sp28** dans CD_3OD .

Position	Composé Sp28										
	δ_{C}	$\delta_{\text{HM}}(\text{J en Hz})$		δ_{C}	$\delta_{\text{HM}}(\text{J en Hz})$		δ_{C}	$\delta_{\text{HM}}(\text{J en Hz})$		δ_{C}	$\delta_{\text{HM}}(\text{J en Hz})$
	Kaempferol			3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-Glc			3''-<i>O</i>-(<i>E</i>)-<i>p</i>-coumaroyl			6''-<i>O</i>-(<i>E</i>)-<i>p</i>-coumaroyl	
2	157,7	-	1''	102,3	5,40, d (7,8)	1a	125,8	-	1b	125,6	-
3	133,7	-	2''	72,7	3,72, dd(7,9-9,5)	2a	129,8	7,50, d (8,6)	2b	129,8	7,35, d (8,6)
4	177,8	-	3''	77,2	5,16, t(9,2)	3a	115,4	6,84, d (8,6)	3b	115,4	6,82, d (8,4)
5	161,5	-	4''	68,7	3,59, t (9,0)	4b	159,9	-	4b	159,8	-
6	98,9	6,16, d(2,0)	5''	74,3	3,63 m	5a	115,4	6,84, d (8,6)	5b	115,4	6,82, d (8,4)
7	167,3	-	6''	62,6	4,26, dd (11,2-6,2) 4,34, dd(11,7-2,0)	6a	129,8	7,50, dl (8,5)	6b	129,8	7,35, d (8,6)
8	93,6	6,32, d(2,0)				7a	145,3	7,72, d (16,0)	7b	145,2	7,45, d (16,0)
9	157,1	-				8a	113,9	6,45, d (16,0)	8b	113,4	6,12, d (16,0)
10	103,9	-				9a	167,5	-	9b	167,3	-
1'	121,2	-									
2'	130,8	8,02, d (8,8)									
3'	114,7	6,88, d (8,8)									
4'	160,2	-									
5'	114,7	6,88, d (8,8)									
6'	130,8	8,02, d (8,8)									

III.2.2 Détermination structurale des composés Sp29 et Sp30

Les données RMN ^1H du et ^{13}C du composé **Sp29** suggèrent son appartenance à la classe des flavonoïdes où il est observé sur le spectre RMN ^1H (Figure III-147) :

- Un doublet de doublets à δ_{H} 7,46 ppm (1H, *dd*, $J=8,3$ -2,2Hz), un doublet à δ_{H} 7,42 ppm (1H, *d*, $J=2,2$ Hz) et un doublet à δ_{H} 6,90 ppm (1H, *d*, $J=8,3$ Hz) assignés aux trois protons du cycle B 3',4'-disubstitué d'un flavonoïde. Ces protons sont attribués à H-2', H-6' et H-5' respectivement.
- Deux signaux apparaissent sous forme de doublet à δ_{H} 6,80 ppm (1H, *d*, $J=2,1$ Hz) et 6,45 ppm (1H, *d*, $J=2,1$ Hz) attribuables aux protons H-8 et H-6 couplés en méta du cycle A.
- Un singulet à δ 6,77 ppm (1H) assigné à H-3 caractéristique d'un flavone.

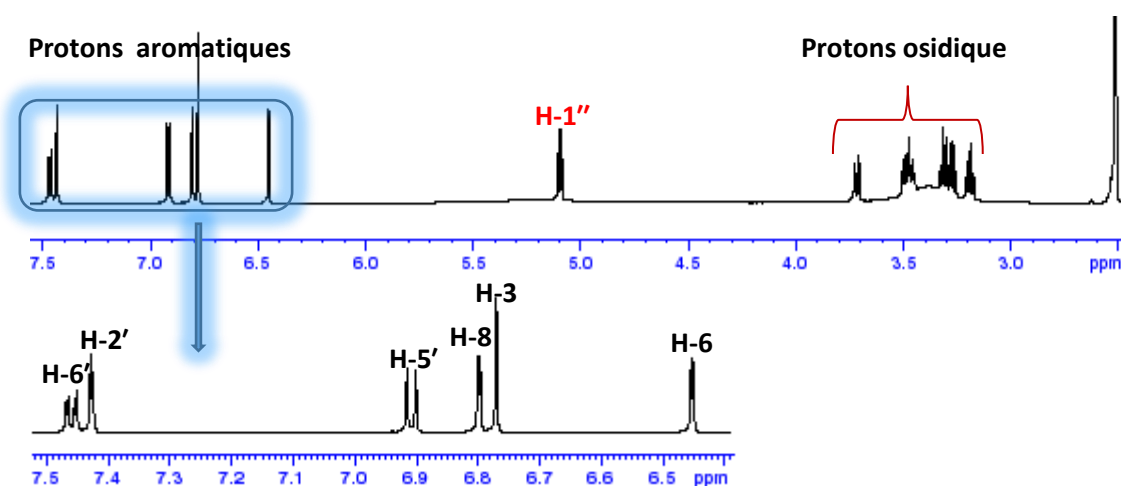


Figure III-147 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp29**.

L'analyse conjointe des spectres HSQC et HMBC du composé **Sp29** et la comparaison avec les données de la littérature permettent d'attribuer sur le spectre RMN ^{13}C (Figure III-148) tous les carbones correspondant à 5, 7,3',4'-tétrahydroxyflavone ou Lutéoline.

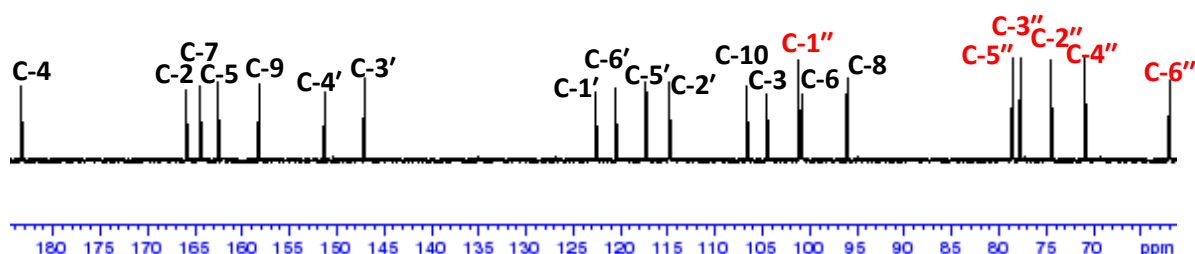


Figure III-148 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp29**.

En plus des signaux caractéristiques de la lutéoline le spectre de RMN ^1H montre la présence des signaux caractéristiques d'une unité osidique dont le proton anomérique résonne à 5,10 ppm ($d, J = 7,6 \text{ Hz}$).

L'analyse combinée des spectres RMN COSY, HSQC, HMBC permet de retrouver les signaux osidiques caractéristiques d'un $\beta\text{-D-glucose}$.

La corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure III-149) entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-7 de la génine confirme bien la substitution du carbone C-7 par le glucose.

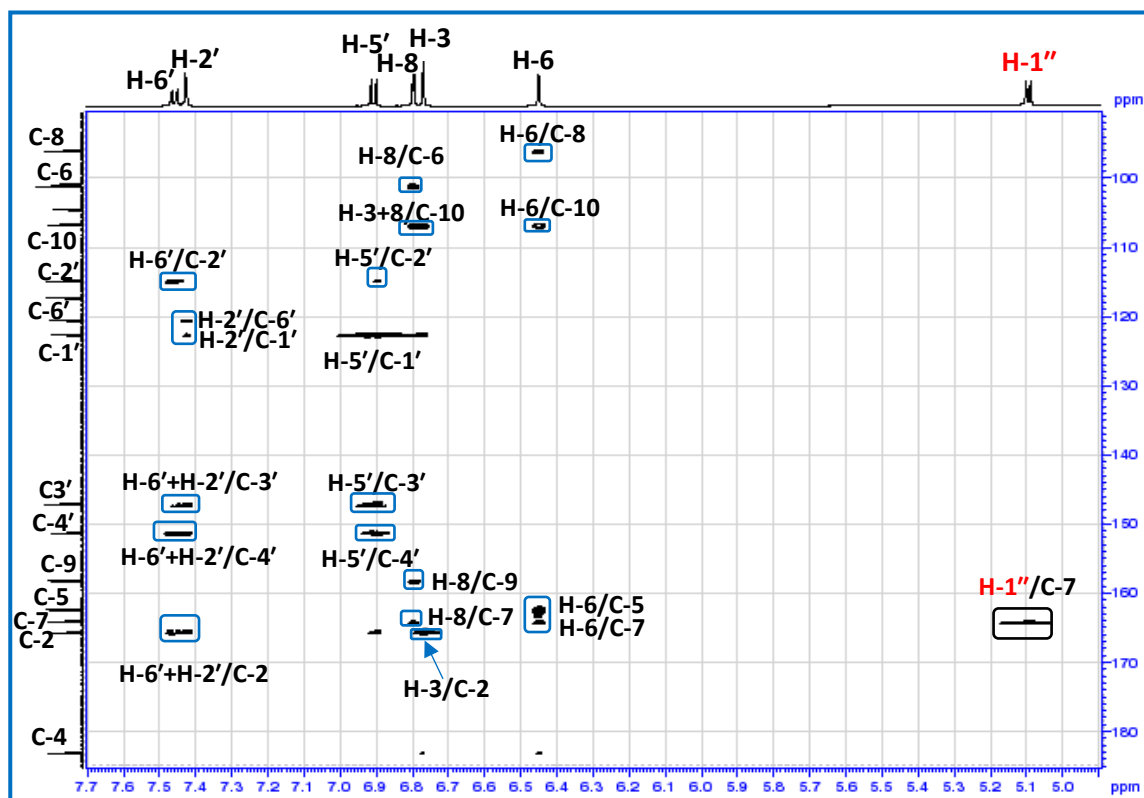
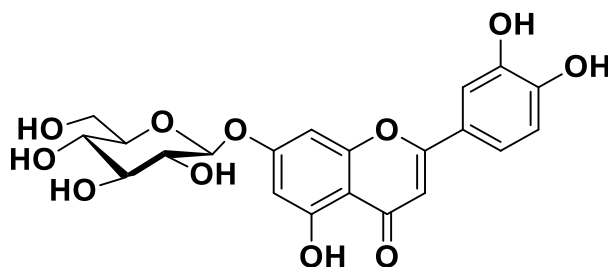


Figure III-149 : Spectre HMBC du composé Sp29.

Toutes ces données spectrales et la comparaison avec celles de la littérature, nous permettent de proposer pour le composé Sp29 la structure: **lutéoline-7-O- $\beta\text{-D-glucopyranoside}$** connue sous le nom **Cynaroside** [Chiruvella et al., 2007].



Sp29: luteoline 7-O- $\beta\text{-D-glucopyranoside}$

Le spectre de RMN ^1H de composé **Sp30** (Figure III-150) est très proche de celui du composé **Sp29**. On retrouve tous les signaux caractéristiques du composé **Sp29**, les cinq protons aromatiques :

-Deux doublets, intégrant chacun pour 1H avec une constante méta de couplage $J = 2,1$ Hz, situés à 6,45 et 6,22 ppm attribuables à H-8 et H-6 du cycle A.

-Trois signaux des protons d'un système ABX caractéristiques des protons du cycle B attribuables aux H-2' ($\delta_{\text{H}} 7,38$, d , $J = 2,2$ Hz), H-5' ($\delta_{\text{H}} 6,92$, d , $J = 8,1$ Hz) et H-6' ($\delta_{\text{g}} 7,40$, dd , $J = 8,2-2,2$ Hz).

-Un signal singulet à $\delta_{\text{H}} 6,55$ caractéristique d'un proton oléfinique H-3 d'une flavone.

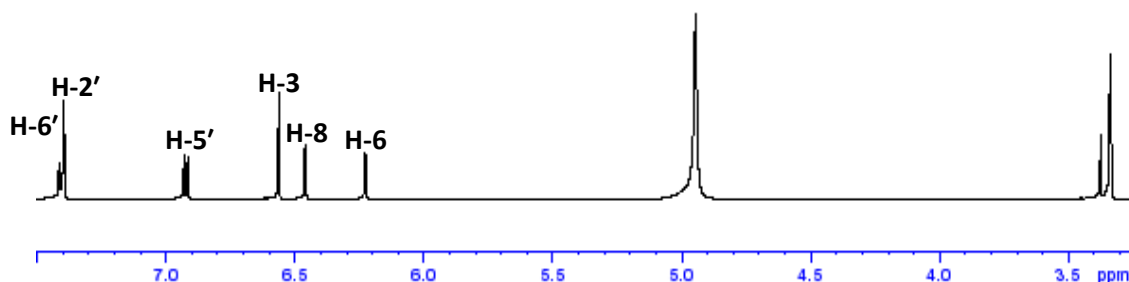


Figure III-150 : Spectre RMN ^1H du composé **Sp30**.

L'analyse conjointe des spectres HSQC et HMBC du composé **Sp30** et la comparaison avec les données de la littérature permet d'attribuer sur le spectre RMN ^{13}C tous les carbones correspondant à la **5, 7, 3', 4'-tétra hydroxy flavone** connu sous le nom de la **lutéoline**, [Okamura et al., 1994].

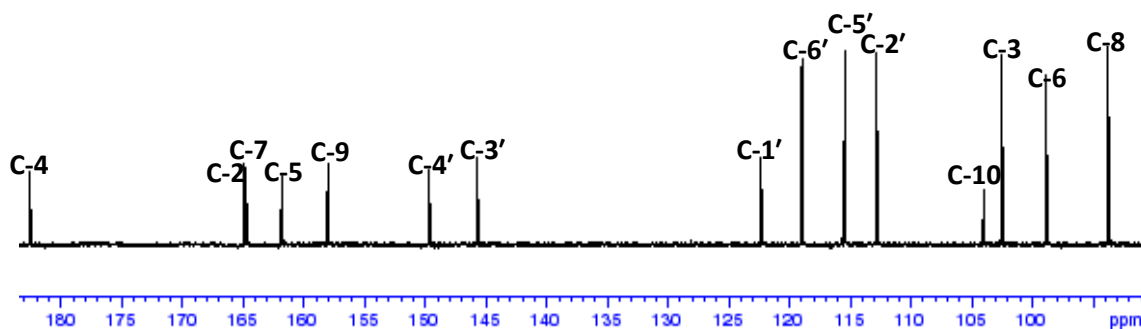
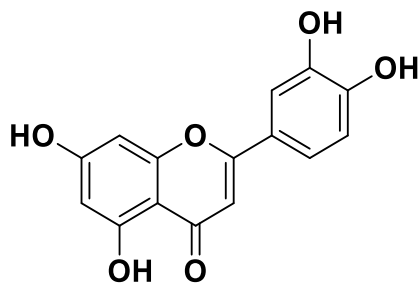


Figure III-151 : Spectre RMN ^{13}C du composé **Sp30**.



Sp30 :Luteoline

Tableau III-22: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé Sp29 dans DMSO- d_6 et Sp30 dans CD_3OD .

Composé Sp29			Composé Sp30		
Position	δ_{C}	δ_{Hm} (J en Hz)	Position	δ_{C}	δ_{Hm} (Jen Hz)
	Lutéoline			Lutéoline	
2	165,7	-	2	164,9	-
3	104,4	6,77 s	3	102,4	6,55 s
4	183,1	-	4	182,4	-
5	162,3	-	5	161,8	-
6	100,7	6,45, d (2,1)	6	98,7	6,22, d (2,1)
7	164,2	-	7	164,9	-
8	95,9	6,80, d (2,1)	8	93,6	6,45, d (2,1)
9	158,2	-	9	158,9	-
10	106,6	-	10	103,8	-
1'	122,5	-	1'	122,2	-
2'	114,8	7,42, d (2,2)	2'	112,7	7,38, d (2,2)
3'	147,1	-	3'	145,6	-
4'	151,1	-	4'	149,6	-
5'	117,2	6,90, d (8,3)	5'	115,3	6,92, d (8,1)
6'	120,4	7,46, dd (8,3-2,2)	6'	118,8	7,40, dd (8,2-2,2)
7-O-β-D-Glc					
1''	101,0	5,10, d (7,6)			
2''	74,3	3,27, t (9,0)			
3''	77,6	3,32, t (9,0)			
4''	70,7	3,20, t (9,0)			
5''	78,4	3,63 m			
6''	61,8	3,50, dd (11,5-6,1)			
		3,72, d (10,3)			

III.2.3 Détermination structurale du composé Sp31

L'analyse du spectre RMN ^1H (Figure III-152) permet de visualiser:

- Deux signaux doubles s'intégrant pour deux protons chacun résonant à δ_{H} 7,88 ($d, J = 8,7$ Hz) et δ_{H} 6,95 ($d, J = 8,7$ Hz) correspondent aux protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' du noyau B d'un flavonoïde oxygéné en position 4'.
- Deux signaux singulets larges résonant à δ_{H} 6,23 ($d, J=2,0\text{Hz}$) et 6,47($d, J=2,0$ Hz) sont attribués respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A.
- Un signal singulet à δ_{H} 6,61 caractéristique d'un proton oléfinique H-3 d'une flavone.

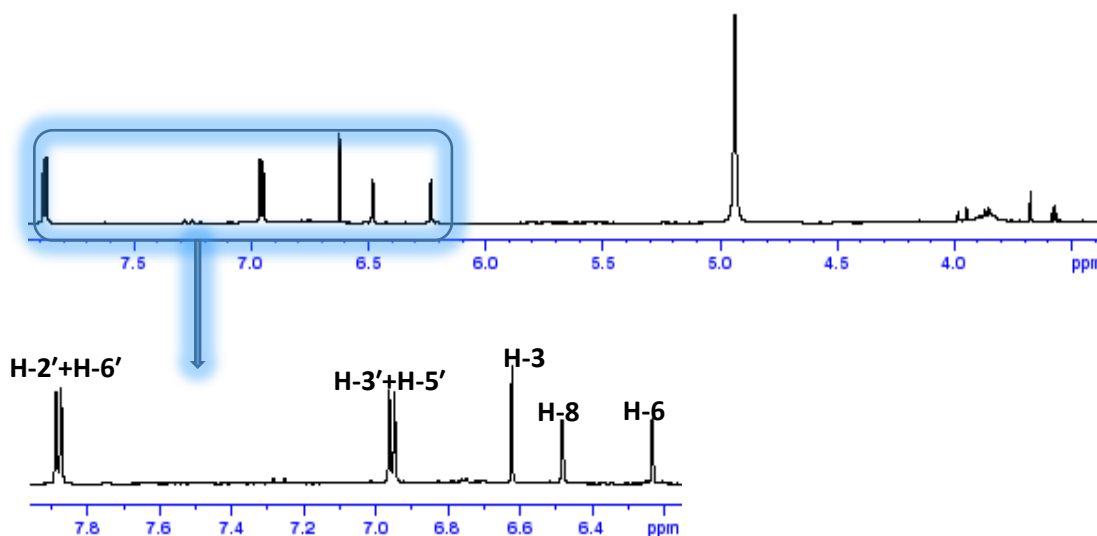
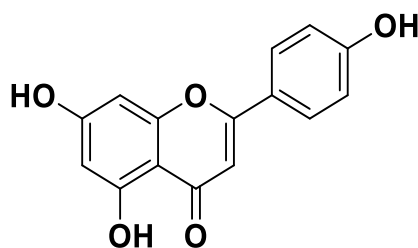


Figure III-152 : Spectre RMN ^1H du composé Sp31.

Les déplacements chimiques des carbones et des protons attribués au composé Sp31 sont en accord avec celles rapportées dans la littérature pour l'apigénine [Wawer et al., 2001].



Sp31 : Apigénine

Tableau III-23: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **Sp31** dans CD_3OD .

Composé Sp31		
Position	δ_{C}	δ_{HM} (Jen Hz)
	Apigénine	
2	164,7	-
3	102,4	6,61 s
4	182,4	-
5	161,8	-
6	98,7	6,23, d (2,0)
7	164,8	-
8	93,6	6,47, d (2,0)
9	158,0	-
10	103,8	-
1'	121,2	-
2'	128,1	7,88, d (8,7)
3'	115,6	6,95, d (8,7)
4'	161,4	-
5'	115,6	6,95, d (8,7)
6'	128,0	7,88, d (8,2-2,2)

CHAPITRE 2

Détermination structurale des composés isolés de *Tuberaria guttata*

Etude phytochimique de l'espèce *Tuberaria guttata*

Le matériel végétal (1000 g) constitué des parties aériennes de la plante *Tuberaria guttata* (*Cistaceae*), est mis à macérer pendant 48 heures dans un mélange méthanol/eau (80/20), cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. La solution extractive obtenue est concentrée par évaporation pour donner 135,6 g d'extrait brut.

50 g de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Tuberaria guttata* ont été fractionnés par VLC en phase inverse C₁₈ avec l'éluant H₂O-MeOH (70/30, 60/40, 40/60, 20/80, 0/100 : v/v). 13 fractions ont été collectées selon l'analyse des CCM. Les fractions **A** et **B** (Figure III-153) sont soumises par la suite à des opérations de purification. Ainsi, **3** composés (**Tb-1** à **Tb-3**) de nature flavonoïdique ont été isolés.

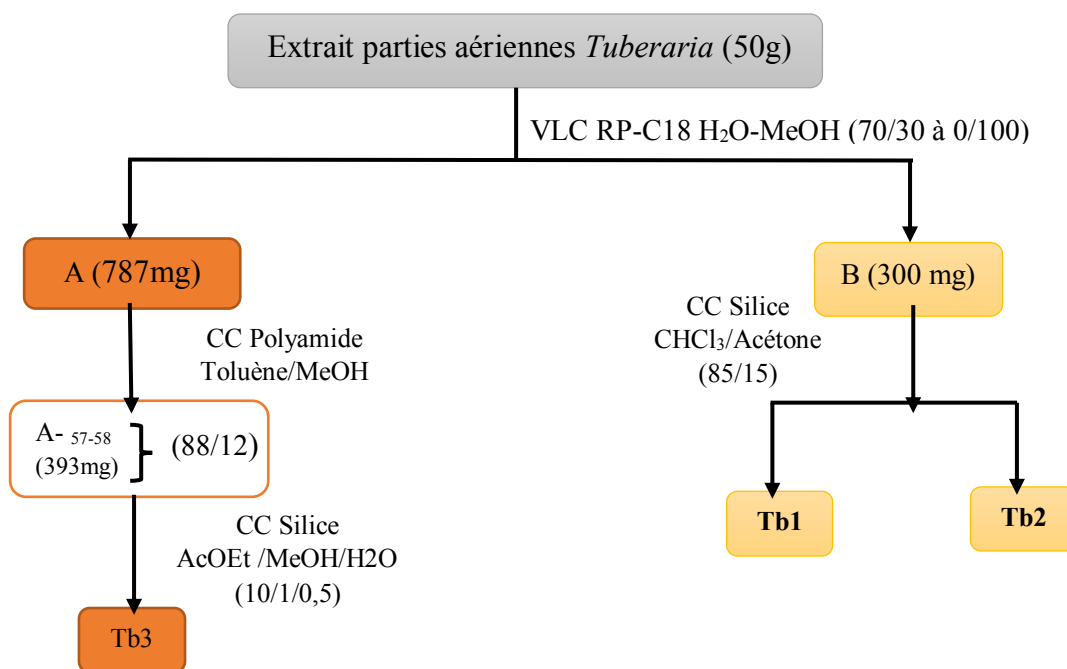


Figure III-153: Schéma de purification de l'extrait éthanolique de *T.guttata*.

III.3.1 Détermination structurale du composé Tb1

L'analyse combinée des spectres de RMN 1D et 2D du composé **Tb1** montre que ce composé est identique point par point au composé **Sp28** qui a été identifié comme étant le **kaempférol 3-O-(3'',6''-di-O-E-p-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside** (Figure I-154) ce composé a été isolé ultérieurement de l'espèce *Stenochlaena palustris* (Burm.)(Pteridaceae) [Chear et al., 2016] puis d'*Halimium halimifolium* (L.) Wilk (Cistaceae) [Kerbab., 2017] mais il a été identifié pour la première fois dans le genre *Tuberaria*.

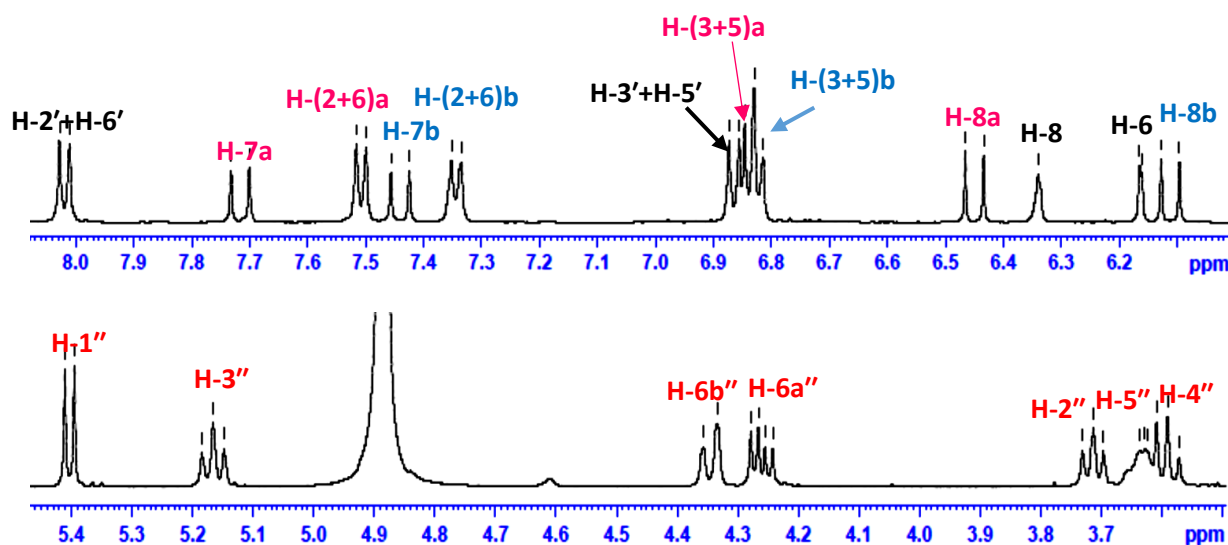


Figure III-154 : Spectres de RMN ^1H du composé Tb1.

III.3.2 Détermination structurale du composé Tb2

Le spectre RMN ^1H (Figure III-155) présente pour le composé **Tb2** les mêmes signaux déjà identifiés sur le spectre du composé **Sp28** (Tableau III-24) :

- Les signaux d'un squelette de kaempférol.
- Les signaux d'un groupement p-E coumaroyl.
- Les signaux d'un β -D-glucose [H-1'', δ_{H} 5,26 ($d, J=7,4\text{Hz}$), δ_{C} 102,5 ppm] .

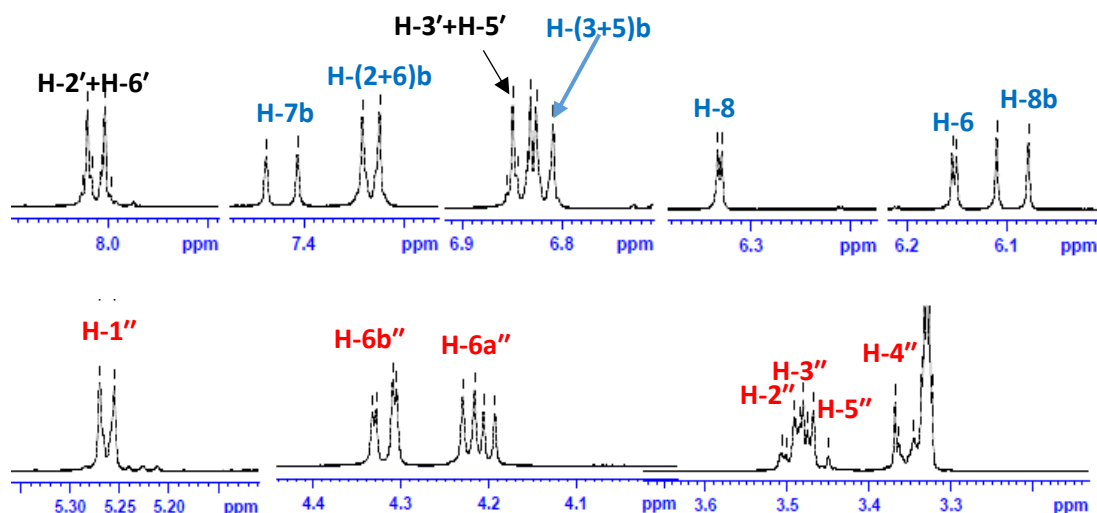


Figure III-155 : Spectre RMN ^1H du composé **Tb2**.

Les corrélations HMBC (Figure III-156) observées sur le spectre entre le carbone C-3 du kaempférol et le proton anomérique H-1'' du glucose confirme son attachement en cette position.

La seule différence entre les deux composés c'est au niveau du glucose du composé **Tb2** qui est acylé par un seul groupement *p*-coumaroyl.

Le déblindage des protons H₂-6'' du β -D-glucose [δ_{H} 4,21 (*dd*, $J = 11,8-6,6$ Hz), H- 6a'', 4,32 (*dd*, $J=11,8 -2,1$ Hz), H-6''b] indique que le carbone C-6'' est acylé par le groupement *p*-coumaroyl. Ceci est confirmé par les corrélations HMBC observées entre le carbonyle C-9b du coumaroyl et les protons H₂-6'' du glucose (Figure III-156, Tableau III-24).

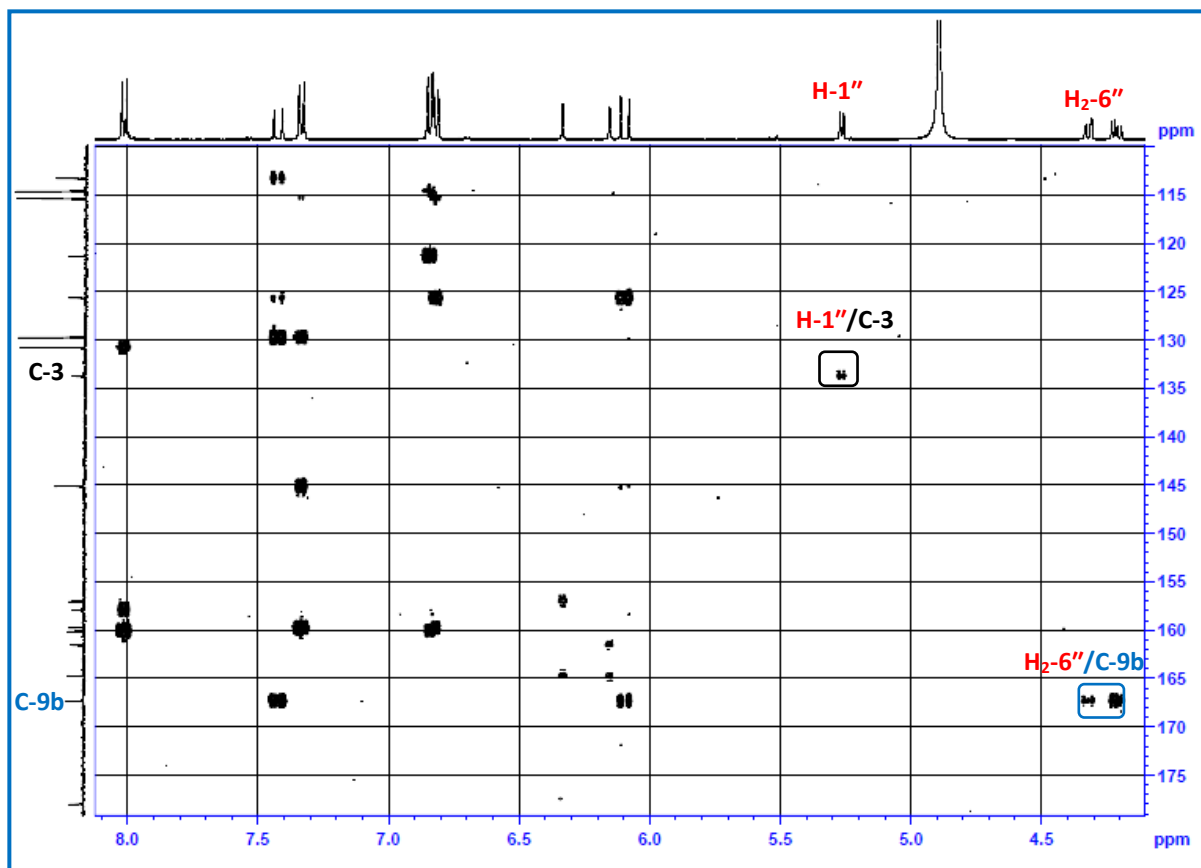
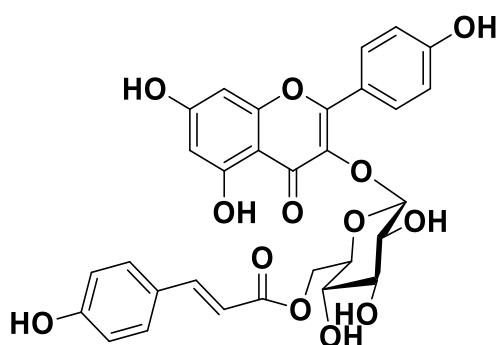


Figure III-156 : Spectre HMBC du composé Tb2.

La structure finale du composé Tb2 est identifiée comme étant le **kaempferol-3-O-[6''-O-E-p-coumaroyl]- β -D-glucopyranoside** appelé **Tiliroside** [Rezende et al., 2019 ; Costa et al., 2007].



Tb2 : kaempferol-3-O-[6''-O-(E)-p-coumaroyl]- β -D-glucopyranoside.

Tableau III-24: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) des composés **Tb 2** dans CD_3OD .

Composé Tb2								
Position	δ_C	δ_{HM} (J en Hz)		δ_C	δ_{HM} (J en Hz)		δ_C	δ_{HM} (J en Hz)
Kaempferol			3-O- β -D-Glc			6''-O-(E)-p-coumaroyl		
2	157,9	-	1''	102,5	5,26, d (7,4)	1b	125,6	-
3	133,8	-	2''	74,3	3,50, m	2b	129,7	7,33, d (8,5)
4	178,0	-	3''	74,4	3,48, m	3b	115,4	6,81, d (7,8)
5	161,6	-	4''	70,3	3,35, m	4b	159,8	-
6	98,6	6,15, d (2,1)	5''	76,6	3,46, m	5b	115,4	6,81, d (7,8)
7	164,7	-	6''	62,8	4,21, dd (11,8-6,6)	6b	129,7	7,33, d (8,5)
					4,32, dd (11,8-2,1)	7b	145,1	7,42, d (16,0)
8	93,4	6,33, d (2,1)				8b	113,3	6,10, d (16,0)
9	157,0	-				9b	167,3	-
10	104,1	-						
1'	121,3	-						
2'	130,8	8,00, d (8,9)						
3'	114,5	6,84, d (8,9)						
4'	160,1	-						
5'	114,5	6,84, d (8,9)						
6'	130,8	8,00, d (8,9)						

III.3.3 Détermination structurale du composé **Tb3**

Pour le composé **Tb3** son spectre RMN ^1H (Figure III-157) montre cinq protons aromatiques caractéristiques de la quercétine :

- Deux doublets d'intégration 1H chacun, le premier à δ_{H} 6,22 ($J= 2,0\text{Hz}$), le second à δ_{H} 6,42 ($J= 2,0\text{Hz}$) attribuables à H-6 et H-8, respectivement, pour le cycle A. En outre, le cycle B est présenté par des signaux d'un système ABX à δ_{H} 6,88, 7,61 et 7,86, caractéristiques respectivement des protons H-5' ($d, J= 8,5\text{ Hz}$), H-6' ($dd, J= 8,5 - 2,1\text{ Hz}$) et H-2' ($d, J= 2,1\text{ Hz}$). En plus des signaux de la quercétine, un signal d'un proton anomérique a δ_{H} 5,18 ppm ($d, J= 7,8\text{ Hz}$).

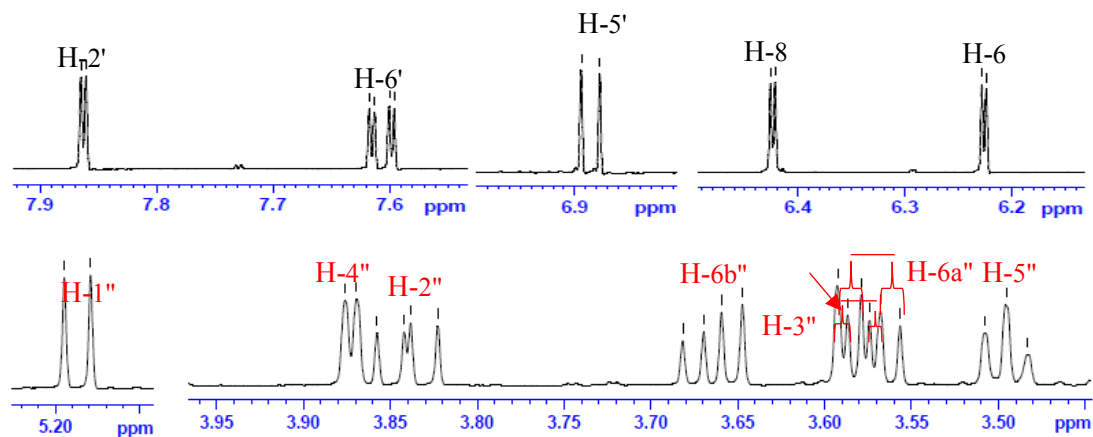


Figure III-157 : Spectre RMN ^1H du composé **Tb3**.

L'analyse combinée des spectres de RMN COSY, HSQC et HMBC du composé **Tb3** permet de retrouver les mêmes signaux osidiques décrits pour la partie osidique du flavonoïde **Tb2**, il s'agit donc d'un β -D-glucopyranose.

La corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure III-158) entre le proton anomérique et le carbone C-3 confirme bien la substitution du carbone C-3 par le glucose.

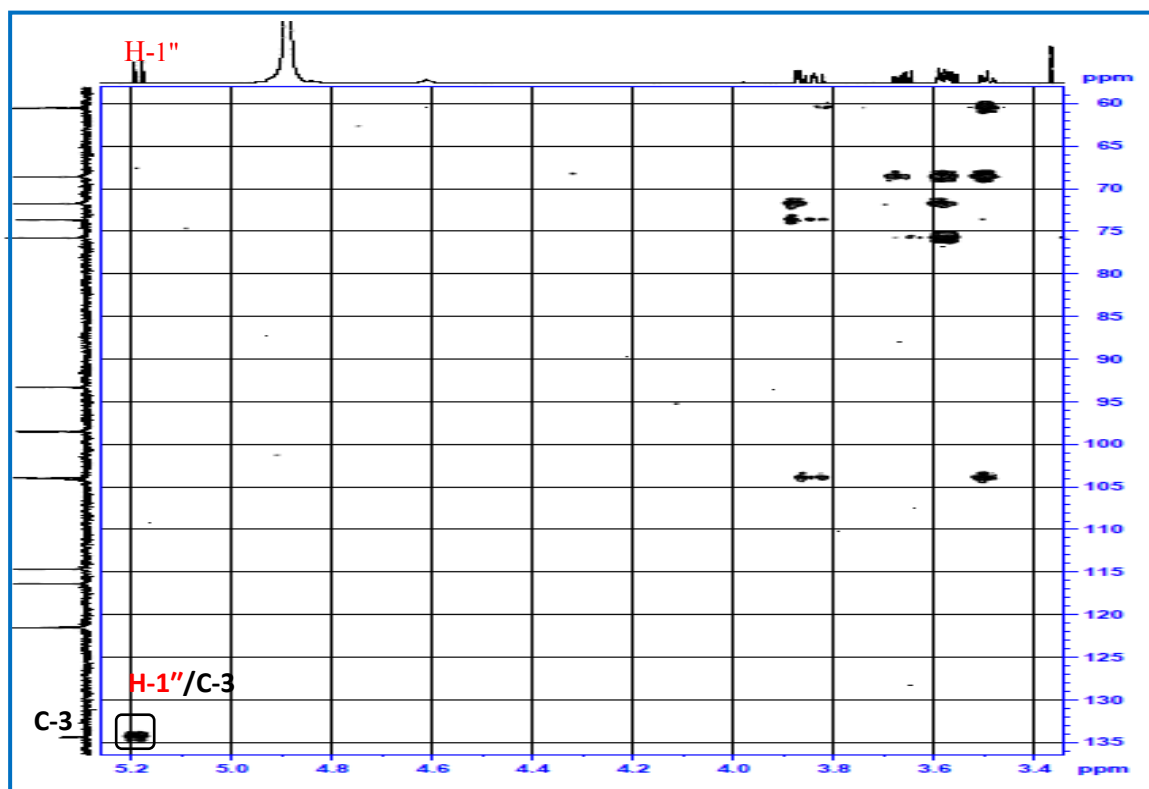
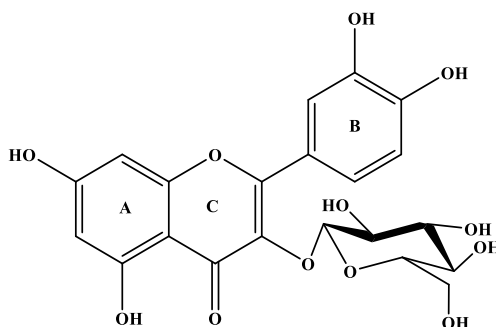


Figure III-158 : Spectre HMBC du composé **Tb3**.

L'ensemble des informations précédemment obtenues par les analyses des spectres de RMN par comparaison avec les données de la littérature cette structure s'est avérée identique à celle de la **quercétine-3-O- β -D-glucoyranoside**. Ce composé appelé **Isoquercitrine** a été isolé antérieurement des espèces appartenant à la famille Cistaceae comme *Helianthemum glomeratum* [Calzada et Alanis., 2007], *Helianthemum sessiliflorum* [Benabdelaziz et al., 2015], *Cistus ladanifer* [Lorente et al., 1992], *Cistus incanus* [Riehle et al., 2013] et *Tuberaria lignosa* [Pinela et al., 2012].



Tb3 : Quercétine-3-O- β -D-glucoyranoside

Tableau III-25 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **Tb3** dans CD_3OD .

Composé Tb3					
Position	δ_{C}	δ_{H} (m, J= Hz)	Position	δ_{C}	δ_{H} (m, J= Hz)
Quercétine			3-O- β -D-Glc		
2	157,4	-	1''	104,0	5,18, d (7,8)
3	134,4	-	2''	71,7	3,84, dd (9,6-7,8)
4	178,1	-	3''	73,7	3,58, dd (9,5-2,8)
5	161,6	-	4''	68,6	3,88, dl (2,8)
6	98,5	6,22, d (2,0)	5''	75,8	3,50, dd(6,1)
7	164,8	-	6''	60,5	3,58, dd (11,4-6,3)
8	93,3	6,42, d (2,0)			3,67, dd (11,3-5,9)
9	157,1	-			
10	104,2	-			
1'	121,5	-			
2'	116,4	7,86, d (2,1)			
3'	144,4	-			
4'	148,6	-			
5'	114,7	6,89, d (8,5)			
6'	121,5	7,61, dd (8,5-2,1)			

-A-

- Agrawal, P., K. (1992).** NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*. 31(10), 3307-30.
- AlabdulMagid, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Renimel, I., Harakat, D., Moretti, C., Lavaud, C. (2006).** Triterpenoid saponins from the stem bark of *Caryocar villosum*. *Phytochemistry* .67, 2096–2102.

-B-

- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Johnston, M. R., Cooper, P., & Petrovsky, N. (2012).** Observation of the keto tautomer of D-fructose in D₂O using ¹H NMR spectroscopy. *Carbohydrate research*. 347(1), 136-141.
- Baykal, T., Panayir, T., Tasdemir, D., Sticher, O., Calis I. (1998).** Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. *Phytochemistry*. 48, 867- 873.
- Ben Abdelaziz, I., Haba, H., Lavaud, C., Harakat, D., Benkhaled., M. (2015).** Lignans and Other Constituents from *Helianthemum sessiliflorum* Pers. *Records of Natural Products*.9 (3), 342-348.
- Bendamene ,S., Boutaghane ,N., Bellik ,Y., Sayagh , C., Alabdul Magid ,A., Harakat , D., Kabouche ,Z., Voutquenne-Nazabadioko,L.(2020).** Semipapposides A-M, triterpenoid bidesmosides saponins from the roots of *Scabiosa semipapposa*. *Pytochemistry* .180 ,112526.
- Bock, K. Pedersen,C., Pedersen, H.(1984).** Carbon-13 nuclear magnetic resonance data for oligosaccharides. *Advances in Carbohydrate chemistry and Biochemistry*.42, 193-225.
- Bock, K., Pedersen ,C.(1983)** .Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy of monosaccharides. *Advances inCarbohydrate chemistry and Biochemistry*.41, 27-49.
- Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Harakat, D., Simon, A., Kabouche, Z., (2013).** Triterpenoid saponins of *Genista ulicina* Spach. *Phytochemistry* .93, 176–181.
- Brasseur T, Angenot L. (1986).** Flavonol glycosides from leaves of *Strychnos varialis*. *Phytochemistry*. 25, 563-564.
- Budaravi.S (1989).****The Merck Index:** An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals Eleventh Edition - Edited bay Rahway, N.J., U.S.A: Merck &Co., INC.

-C-

- Calis, I., Lahloub,M.f.,Sticher,O.(1984a).** Loganin, Loganic Acid Periclymenoside, A New Biosidic ESTER Iridoid Glucoside from *Lonicera Periclymenum* L. (Caprifoliaceae). *Helvetica Chimica Acta* .67, 18,160-165.

- Calis, I., Sticher, O., (1984b).** Secoiridoid Glucosides from *Lonicera Perlclymenum* .*Phytochemistry*. 23(11), 2539-2540.
- Calzada, F., Alanis, A.D. (2007).** Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy research*.21,78-80.
- Chear, N.J.Y., Khaw, K.Y., Murugaiyah, V., Lai, C.S.(2016).** Cholinesterase inhibitory activity and chemical constituents of *Stenochlaenapalustris* fronds at two different stages of maturity. *Journal of food and drug analysis*.299, 1-9.
- Chen, Y., Shan, Y., Zhao, Y.Y., Wang, Q.Z., Wang, M., Feng, X., Liang, J.Y. (2012).** Two new triterpenoidsaponins from *Loniceramacranthoides*. *Chinese. Chemical. Letters*. 23, 325–328.
- Chiruvella, K.K., Mohammed, A., Dampuri, G. Ghanta, R.G., Raghavan, S.C. (2007).** Phytochemical and Antimicrobial Studies of Methyl Angolensate and Luteolin-7-O-glucoside Isolated from Callus Cultures of *Soymidafebrifuga*. *International Journal of Biomedical Science*. 3 (4), 269-78.
- Costa, D. A., Silva, D. A., Cavalcanti, A. C., Medeiros, M. A. A., Lima, J. T., Cavalcante, J. M. S., Silva, B. A., Agra, M. F., Souza, M. F. V. (2007).**Chemical constituents from *bakeridesiapickeliimonteiro*(Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. *Quimica. Nova*, 30, (4), 901-903.
- Cowan, S., Stewart, M., Abbiw, D. K., Latif, Z., Sarker, S. D., Nash, R. J. (2001).**Lignans from *Strophanthusgratus*. *Fitoterapia*.72, 80-82.

-D-

- Deyama, T., Ikawa, T., Kitagawa, S., Neshibe, S. (1986).**The Constituent of *EucommiaUlmoides* OLIV.III .Isolation and Structure of a new Lignan Glycoside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.32, 325-527.

-E-

- El-Ghazooly, M., G, El-lakany, M., A., Abou-Shoer, M., I., Aly, A., H. (2003).**Chemical Constituents of *Helichrysumconglobatum* Growing in Egypt. *Naturel Product sciences*. 9(4) 213-219.

-G-

- Gandhi, G., R., Ignacimuthu, S., Paulraj, M., G., Sasikumar, P. (2011).** Antihyperglycemic activity and antidiabetic effect of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz.

fruit in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*. 670, 623–631.

Godevac, D., Mandić, B., Vajs, V., Tesević, V., Menković, N., Janacković, P., Milosavljević, S., (2006) .Triterpenoidsaponins and iridoid glycosides from the aerial parts of *Cephalariapastricensis*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34, 890–893.

Graikou, K. (1999). Bioactive chemical constituents from the aerial parts of *Pterocephalusperennis sp. perennis*. Master of Science, University of Athens.

Graikou, K., Aliginnis, N., Chinou, I., B., Hava, C. (2002). Cantleyoside-dimethyl-acetal and Other IridoidGlucoside from *Pterocephalusperennis*-Antimicrobial Activities. *Zeitschrift für Naturforschung*. 57C, (1-2), 95-99.

Gülcemal, D., Masullo, M., AlankuşÇalışkan, O., Karayildirim, T., Şenol, S., G., Piacente, S., Bedir, E. (2010). Monoterpenoidglucoindole alkaloids and iridoids from *Pterocephaluspinardii*. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 48, 239-243.

-H-

Hofer, O., Wagner, U.G., Greger, H. (1988). X-Ray structural analysis of tetrahydrofurofuranlignans. *Monatshefte für Chemie*. 119, 1143-1153.

Hofer, O., Wurz, G., (1992). Lanthanide induced shifts of aromatic 1,2,3-trimethoxy compounds: conformational analysis of Tetrahydrofurofuran-Lignans in solution. *Monatshefte für Chemie*. 123, 105-120.

Horn, M.M., Drewes, S.E., Brown, N.J., Munro, O.Q., Marion Meyer, J.J., Mathekga, A.-D.M. (2001). Transformation of naturally-occurring 1,9-trans-9,5-cis sweroside to all trans sweroside during acetylation of sweroside aglycone. *Phytochemistry*. 57, 51-56.

-J-

Jensen, S. R., Lyse-Petersen, S.E., Nielsen, B.J. (1979). Novel bis-iridoidglucosides from *DipsacusSylvestris*. *Phytochemistry*. 18, 273-277.

-K-

Kanchanapoom, T., Kasaia, R., Yamasakia, K. (2002). Iridoid and phenolic glycosides from *Morindacoreia*. *Phytochemistry*. 59, 551–556.

Kanho, H., Yaoya, S., Kawahara, N., Nakane, T., Takase, Y., Masuda, K., Kuroyanagi, M. (2005). Biotransformation of benzaldehyde-type and Acetophenone-type derivatives by *Pharbitis nil* hairy Roots. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 53(4), 361-365.

Kayce, P., Kirmizigul, S. (2017). Isolation and identification of a new saponin from *Cephalariaaytachii*. *Natural Product Research*. 31, 50–57.

Kayce, P., Sarikahya, N.B., Kirmizigul, S. (2014). Two novel saponins from *Cephalariadavisiana* (Dipsacaceae). *Phytochemistry Letters*.10, 324–329.

Kerbab, K., (2017). Validation scientifique de l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales algériennes : *Halimiumhalimifolium* (L.) Wilk et *Thymeleaemicrophylla* Coss. et Dur., composition chimique et activité biologique. Thèse de Doctorat, Département de Chimie, Université des Frères Mentouri de Constantine.

Kılınc, H., Masullo, M., D'Urso, G., Karayildirim, T., Alankus, O., Piacente, S. (2020). Phytochemical investigation of *Scabiosasicula* guided by a preliminary HPLC-ESIMS_n profiling. *Phytochemistry*.174, 112350.

Kuroyanagi, M., Sato, M., Ueno, A., Nishi, K.(1987). Flavanoids from *Andrographispaniculata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.35, 4429–4435.

-L-

Lehbili, M., AlabdulMagid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Morjani, H., Harakat, D., Kabouche, Z. (2018 a). Triterpenoidsaponins from *Scabiosastellata* collected in North-eastern Algeria. *Phytochemistry* .150, 40-49.

Lorente, F.T., Garcia-Grau, M.M., Nieto, J.L., Barberan, F.A.T. (1992). Flavonoids from *Cistusladanifer* bee pollen. *Phytochemistry*.31, 2027-2029.

Luo, Y.H, Zhou, Z.Q, Ma, S.C., Fu, H.Z. (2014). Three new antioxidant furofuranlignans from *Callicarpanudiflora*. *Phytochemistry Letters*.7, 194-197.

Lutz, G., Hofer, O., Brader, G., Kratky, C. (1997). Conformational analysis of tetrahydrofurofuranlignans: SESAMOLIN. *Heterocycles*.45, 287-298.

-M-

Ma, W.G., Wang, D.Z., Zeng, Y.L., Yang, C.R. (1991). Three triterpenoidsaponins from *Triplostegiagrandiflora*. *Phytochemistry*.30, 3401–3404.

Ma, W.-G., Wang, D.-Z., Zeng, Y.-L., Yang, C.-R.(1992). Triterpenoidsaponins from *Triplostegiagrandiflora*. *Phytochemistry* .31, 1343–1347.

Mahato, S.B., Kundu, A.P. (1994). ¹³C NMR spectra of pentacyclitriterpenoids. A compilation and some salient features. *Phytochemistry* .37, 1517–1575.

Mahato, S.B., Kundu, A.P.(1994). ¹³C NMR spectra of pentacyclitriterpenoids. A compilation and some salient features. *Phytochemistry* .37, 1517–1575.

-N-

Nishibe, S., Tsukamoto, H., Hisada, S.(1984). Effects of O-Methylation and O- Glucosylation on Carbene-13 Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shifts of Matairesinol,(+)-

Pinoresinol and (+)-Epipinoresinol . *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.32, 4482-4489.

-O-

Okamura, N., Haraguchi, H., Hashimoto, K., Yagi, A. (1994). Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*.37, 1463-1466.

Ozer, O., Sarikahya, N.B., Nalbantsoy, A., Kirmizigul, S. (2018). Increased cytotoxic potential of infrequent triterpenoidsaponins of *Cephalariataurica* obtained through alkaline hydrolysis. *Phytochemistry*. 152, 29–35.

-P-

Pamar, V. S., Gupta, S., Bisht, K. S., Mukherjee, S., Boll, P. M., Errington, W.(1996). Synthesis and X-ray structure of 2-(3-methyl-2-butenyl)-3, 4, 5-trimethoxyphenol: a potent anti-invasive agent against solid tumours. *Acta Chemica Scandinavica*. 50, 558–560.

Papalexandrou, A., Magiatis, P., Perdetzoglou, D., Skaltsounis, A.L., Chinou, I.B., Harvala, C., (2003). Iridoids from *Scabiosavariifolia* (Dipsacaceae) growing in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 91-93.

Perdetzoglou, D., Skaltsa, H., Tzakou, O., Harvala, C. (1994). Comparative phytochemical and morphological study of two species of the *Scabiosa* L. genus. *Feddes Repertorium*.105 (3-4), 157-165.

Piccinelli, A. L., Arana, S., Caceres, A., Bianca, R.E.D.V., Sorrentino, R., Rastrelli, L., (2004). New lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities. *Journal of Natural Products*. 67, 1135-1140.

Pinela, J., Barros, L., Duenas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*.135, 1028–1035.

Pinto, D.C.G.A., Rahmouni, N., Beghidja, N., Silva, A.M.S. (2018). *Scabiosa* genus: a rich source of bioactive metabolites. *Medicines*.5, 110.

-Q-

Qingwei, W., Xing, L., Yeqi, L., Xiaohui, X., Tao, L., Ni, Z., Kintoko, K., Renbin, H. (2012). Phenolic and lignan glycosides from the butanol extract of *Averrhoacarambola* L. Root. *Molecules*.17, 12330-12340.

-R-

- Rani, P.U., P. Devanan.P.(2013).** Bioactivities of caffeic acid methyl ester (methyl-(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoate): a hydroxycinnamic acid derivative from *Solanummelongena* L. fruits *Journal of Pest Science* .86,579–589.
- Rezende F.M., Ferreira M.J.P., Clausen M.H., Rossi M., Furlan C.M. (2019).** Acylated flavonoid glycosides are the main pigments that determine the flower color of the brazilian native tree *Tibouchinapulchra* (Cham.) Cogn. *Molecules*. 24,718.
- Rezgui, A., Mitaine-Offer, A.-C., Miyamoto, T., Tanaka, C., Delemasure, S., Dutartre, P., Lacaille-Dubois, M.-A. (2016).**Oleanolic acid and hederagenin glycosides from *Weigelastrisneri*. *Phytochemistry* .123, 40–47.
- Riehle, P., Vollmer, M., Rohn, S. (2013).** Phenolic compounds in *Cistus incanus* herbal infusions, antioxidant capacity and thermal stability during the brewing process. *Food Research International*.53, 891-899.

-S-

- Sarikahya, N.B. (2014).** Aristatosides A-C, hederagenin-type triterpenesaponins from *Cephalariaaristata*.*Phytochemistry Letters*. 8, 149–155.
- Silverstein, R.M., Webster, F. X., Kiemle, D. J. (2005).** Spectrometric identification of organic compounds. 7th Edition, John Wiley & Sons, USA.

-T-

- Tan, N., Zhou. J, Zhao,S. (1999).**Advances in structural elucidation of glucuronidesoleanane-type triterpene carboxylic acid 3, 28-Obidesmosides (1962-1997).*Phytochemistry* .52, 153-192.
- Thao, N.,P, Luyen, B.,T, Kim, J.H, Jo, A.,R, Dat, N.,T, Kiem, P.,V, Minh, C.,V, Kim, Y.,H.(2016).**Identification, characterization, kinetics, and molecular docking of flavonoid constituents from *Archidendron clypearia* (Jack.) Nielsen leaves and twigs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 15;24(14):3125-32.
- Tian, J., Wu, F.-E., Qiu, M.-H., Nie, R.L. (1993a).** Triterpenoidsaponins from *Pterocephalushookeri*. *Phytochemistry*.32, 1535–1538.
- Tian, J., Wu, F.-E., Qiu, M.-H., Nie, R.L. (1993b).** Two-triterpenoidsaponins from *Pterocephalusbretschneideri*. *Phytochemistry*.32, 1539–1542.
- Top, H., Sarikahya, N.B., Nalbantsov, A., Kirmizigul, S. (2017).**Immunomodulatory, hemolytic properties and cytotoxic activity potent of triterpenoidsaponins from *Cephalariabalansae*.*Phytochemistry* .137, 139–147.

Tsukamoto, H., Hisada, S. Nishibe, S. (1984 b). Lignans from bark of the Olea plants. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.32, 2730-2735.

Tsukamoto, S. Hisada, S. Nishibe (1985). Lignans from bark of Oleaplants. II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 33,1232-1241.

Tsukamoto, H., Hisada, S., Nishibe,S. (1984a). Lignans from bark of *Fraxinusmandshuricavar. japonica* and *F. japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.32, 4482-4489.

-W-

Wawer, I., Zielinska, A. (2001). 13C CP/MAS NMR studies of flavonoids .*Magnetic Resonance In Chemistry*.39, 374–380.

-Y-

Yang, W., JiansongSun ,J., Lu,W., Li,Y., Shan,L., Han,W.,Zhang, W.D., Yu,B. (2010).Synthesis of kaempferol 3-O-(3'',6''-Di-O-E-p-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside, efficient glycosylation of flavonol 3-OH with Glycosyl o-Alkynylbenzoates as Donors.*Journal of Organic Chemistry* .75, 6879–6888.

-Z-

Zheng, Q., Koike, K., Han, L.K., Okuda, H., Nikaido, T. (2004). New biologically activetriterpenoidsaponins from *Scabiosatschiliensis*. *Journal of Natural Products* .67, 604-613.

CHAPITRE 3

Dosages et évaluation des activités biologiques

III.3.1 Résultats du dosage et des activités biologiques

III.3.1.1 Teneurs en phénols totaux de *Scabiosa semipapposa*

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux des 14 extraits de la plante *Scabiosa semipapposa* (extrait brut, F 60/40 (1) et (3), F40/60 (1) et (2) et F 20/80 (1) et (3) des parties aériennes et racinaires) sont représentés dans la Figure III-159.

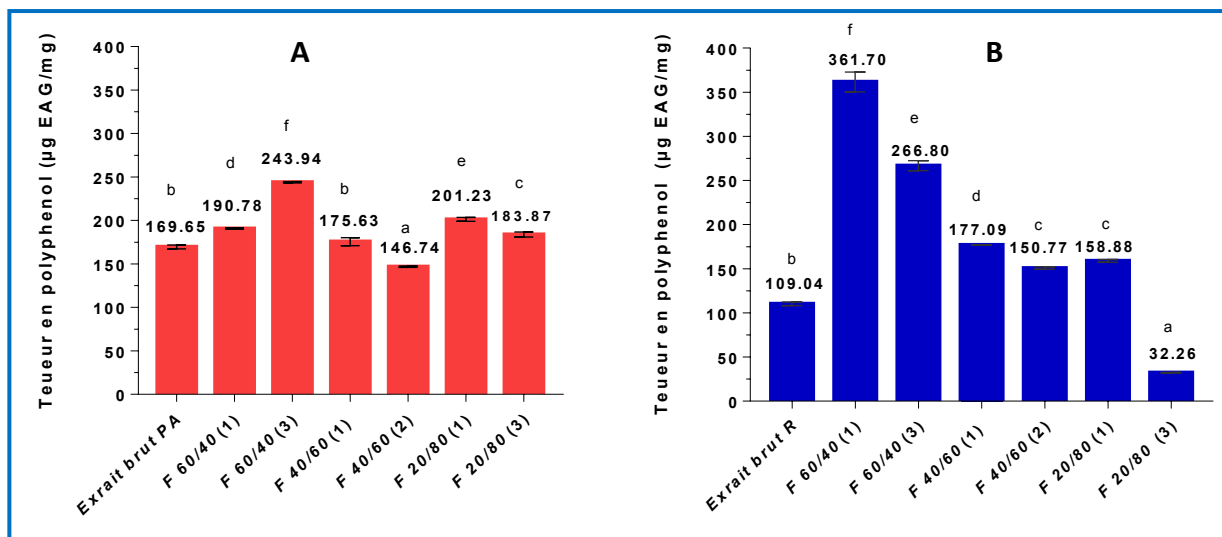


Figure III-159 : Teneurs en composés phénoliques des parties aériennes (A) et des racines (B) de *Scabiosa semipapposa*. Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

Dans les parties aériennes les résultats du dosage des polyphénols indiquent que la **F 60/40 (3)** présente la teneur la plus élevée en polyphénols ($243,94 \pm 0,80$ µg EAG/mg d'extrait) suivi par la **F 20/80 (1)** ($201,23 \pm 2,26$ µg EAG/mg d'extrait), **F60/40 (1)** ($190,78 \pm 0,96$ µg EAG/mg d'extrait), **F 20/80 (3)** ($183,87 \pm 2,92$ µg EAG/mg d'extrait), **F 40/60 (1)** ($175,63 \pm 4,60$ µg EAG/mg d'extrait), et l'extrait brut ($169,65 \pm 2,26$ µg EAG/mg d'extrait) alors que la quantité la plus basse se trouve dans la **F 40/60 (2)** ($146,74 \pm 0,77$ µg EAG/mg d'extrait) (Figure III- 159 A).

Au niveau de la partie souterraine la quantité des polyphénols varie considérablement en fonction des fractions et s'étend de $32,26 \pm 0,31$ à $361,70 \pm 11,16$ µg EAG/mg d'extrait. La teneur la plus élevée se localise dans la **F 60/40 (1)**, tandis que la **F 20/80 (3)** possède la quantité la plus faible (presque 6fois moins que la **F 20/80 (3)** de la partie aérienne) (Figure III-159 B). Toutefois, nous pouvons voir que les **F 60/40 (3)**, **F 40/60 (1)** et **F 40/60 (2)** des racines possèdent des quantités en polyphénols assez proches de celles enregistrées dans les mêmes fractions aériennes, respectivement.

III.3.1.2 Teneur en flavonoïdes totaux de *Scabiosa semipapposa*

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de *S.semipapposa* (parties aériennes et souterraines) montrent que les parties aériennes sont les plus riches en flavonoïdes (Figure III-160 A).

Dans les parties aériennes la quantité des flavonoïdes varie de $20,91 \pm 1,77$ à $85,11 \pm 1,83$ μg EQ/mg d'extrait. La plus forte teneur en flavonoïdes est détectée dans la **F40/60 (1)**, alors que la plus faible concentration est observée dans la **F 60/40 (1)**. Concernant les extraits des racines, les teneurs en flavonoïdes varient entre $5,74 \pm 0,45$ et $74,56 \pm 1,43$ μg EQ/mg d'extrait. La plus forte teneur est détectée dans la **F 60/40 (1)** alors que la **F 20/80 (3)** exprime une valeur presque négligeable ($5,74 \pm 0,45$ μg EQ/mg d'extrait) (Figure III-160 B).

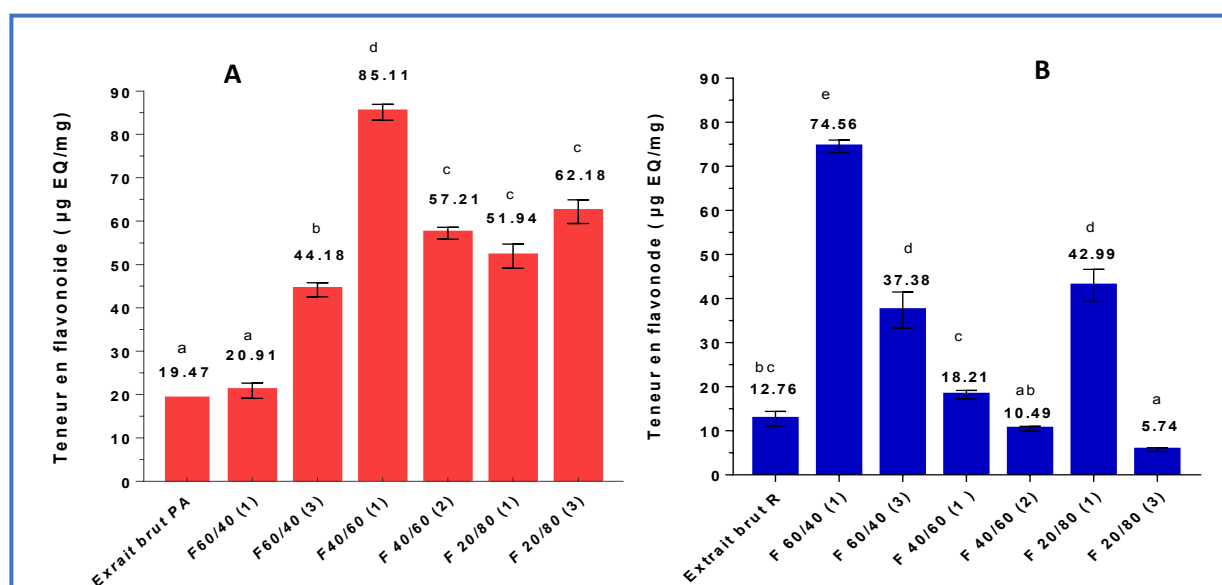


Figure III-160 : Teneurs en flavonoïdes totaux des parties aériennes (A) et des racines (B) de *Scabiosa semipapposa*. Les lettres (a-e) indique une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

Il n'existe, à notre connaissance, aucune étude sur la caractérisation phytochimique de l'espèce *Scabiosa semipapposa*, toutefois, plusieurs études ont rapporté les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux d'autres espèces de *Scabiosa*. Les résultats obtenus dans la présente étude sont en accord avec ceux trouvés par [Hilila et al. \(2013\)](#) qui ont rapporté une teneur de 269,09 mg EAG/g avec l'extrait éthyle-acétate et l'extrait butanolique des fruits de l'espèce *Scabiosa arenaria* Forssk. Cette teneur est quasiment identique à celle enregistrée avec la **F 60/40 (3)** des racines de *Scabiosa semipapposa*. Alors que nos résultats restent largement supérieurs à ceux rapportés par [Moufouk et al. \(2018\)](#) et [Rahmounia et al. \(2018\)](#) qui ont obtenu des teneurs de $117,66 \pm 0,52$ μg EAG/mg et $4,74 \pm 0,01$ mg EAG/g, respectivement avec l'extrait éthyl-acétate et $77,12 \pm 0,29$ μg EAG/mg et $11,86 \pm 0,05$ EAG/g, respectivement avec l'extrait butanolique de

l'espèce *Scabiosa stellata*. Nos résultats sont également supérieurs aux teneurs en polyphénols des extraits des parties souterraines de l'espèce *Scabiosa arenaria* Forssk qui n'excèdent pas 82.36 mg EAG/g [Hlila et al. \(2015a\)](#). D'autre part, l'étude menée par [Ali-rachdi et al. \(2018\)](#) sur *Scabiosa Atropurpurea* montre que cette espèce n'est pas riche en polyphénols et ont obtenu des quantités très faibles avec l'extrait méthanolique (1,303 mg EAG/g), l'extrait hexanique (0,924 mg EAG/g), et l'extrait chloroformique (0,475 mg EAG/g).

Les résultats du dosage des flavonoïdes des extraits bruts des parties aériennes et souterraines étaient de $19,47 \pm 0,00$ μg EAG/mg d'extrait et $12,76 \pm 1,66$ μg EAG/mg d'extrait, respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celle rapportée par [Wang et al. \(2013a\)](#) qui ont trouvé une teneur de 9,21 mg EQ/g en utilisant l'extrait éthanolique de la plante entière chinoise *Scabiosa tchiliensis*. De même, nos résultats sont supérieurs à ceux de [Hlila et al. \(2013, 2015a\)](#) qui ont trouvé des valeurs de l'ordre de 5,86 mg EQ/g dans les racines et 10,9 mg EQ/g dans les parties aériennes. [Ali-rachdi et al. \(2018\)](#) ont rapporté des teneurs très faibles avec l'extrait méthanolique (0,613 mg EQ/g), l'extrait hexanique (0,148 mg EQ/g d'extrait), et l'extrait chloroformique (0,058 mg EQ/g d'extrait).

Les teneurs en flavonoïdes de la **F 60/40 (1)** des racines ($74,56 \pm 1,43$ μg EQ/mg d'extrait) et les fractions des parties aériennes **F40/60(2)** et **F20/80(1)** ($57,21 \pm 1,36$ μg EQ/mg et $51,94 \pm 2,77$ μg EQ/mg d'extrait, respectivement) sont similaires à celles obtenues par [Moufouk et al. \(2018\)](#) avec l'extrait éthyl-acétate ($72,90 \pm 0,76$ μg EQ/mg d'extrait) et l'extrait butanolique ($57,83 \pm 0,25$ μg EQ/mg d'extrait).

Ces variations des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes entre espèces du même genre sont liées à plusieurs facteurs tels que les facteurs biogéniques, environnementaux, stade de maturations ou période de stockage,... [\[Nicoletti et al., 2015\]](#).

III.3.1.3 Potentiel antioxydant de *Scabiosa semipapposa*

L'activité antiradicalaire d'un extrait est généralement exprimée par la détermination de la CI_{50} , c'est une concentration dont le % d'inhibition est de 50%, déterminée à partir de la courbe présentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'échantillon. Dans notre cas, la CI_{50} est exprimée en μg d'extrait /ml de milieu réactionnel pour les deux tests DPPH et ABTS tandis que pour le test de CUPRAC la CI_{50} correspond à l'absorbance $A=0,5$.

III.3.1.3.1 Capacité scavenger du radical DPPH'

Dans notre étude nous avons testé la capacité antiradicalaire des extraits bruts et des extraits de CLV issus des parties aériennes et des racines. Les absorbances obtenues sont converties en

pourcentage d'inhibition permettant de tracer la courbe du pourcentage d'inhibition de chaque échantillon en fonction de sa concentration. La capacité antioxydante est comparée aux antioxydants de référence le BHA et le BHT. D'après les courbes représentées, tous les échantillons testés révèlent une variation de la capacité anti-radicalaire d'une manière dose-dépendante vis-à-vis du DPPH.

Les résultats de la [Figure III-161](#) montrent que l'effet anti-radicalaire de toutes les fractions (F 40/60 (1), F 40/60 (2), 20/80 (1), F 20/80 (3), F60/40 (1), F 60/40 (3)), à l'exception de l'extrait brut, des parties aériennes de *Scabiosa semipapposa* à différentes concentrations, augmentent jusqu'à atteindre les taux les plus haut à 100µg/ml, exprimant ainsi des CI_{50} ($P < 0,05$) de $38,69 \pm 0,88$, $42,15 \pm 0,16$, $52,03 \pm 0,27$, $46,88 \pm 0,62$, $45,08 \pm 0,81$, $46,01 \pm 1,82$ µg/ml, respectivement, qui sont supérieures aux CI_{50} des standards ($8,73 \pm 0,06$ µg/ml pour le BHA et $15,92 \pm 0,10$ µg/ml pour le BHT) ([Figure III-163 A](#)).

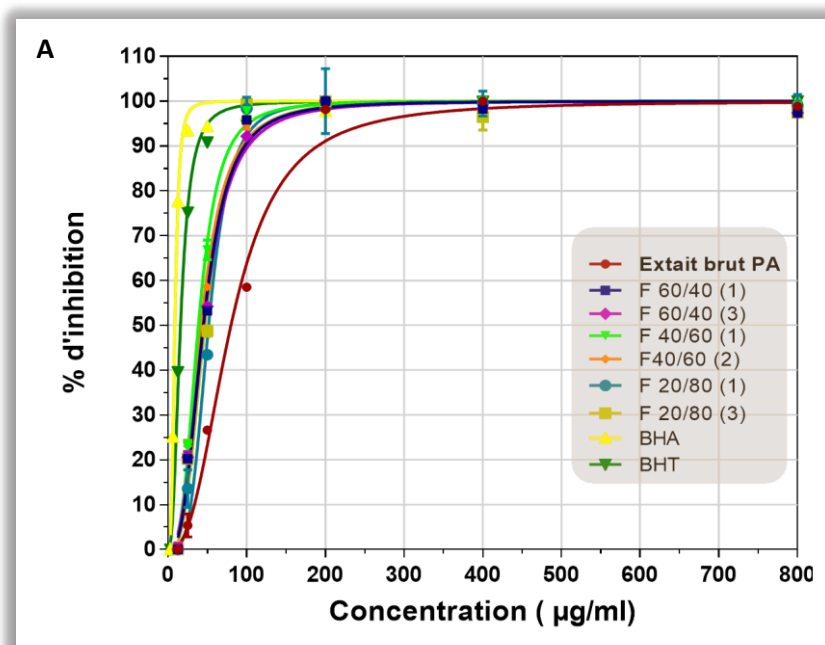


Figure III-161 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH* des extraits des parties aériennes de *Scabiosa semipapposa*.

Les résultats de la [Figure III-162](#) montrent l'effet anti-radicalaire des extraits des racines de *Scabiosa semipapposa*. Il apparaît clairement que la **F60/40 (1)** exprime la plus forte activité anti-radicalaire avec une CI_{50} de $4,92 \pm 0,11$ µg/ml comparable à celle des standards. Seule la **F 20/80 (3)** a montré une faible activité antiradicalaire ($CI_{50} = 315,85 \pm 10,68$ µg/ml) ([Figure III-163 B](#)).

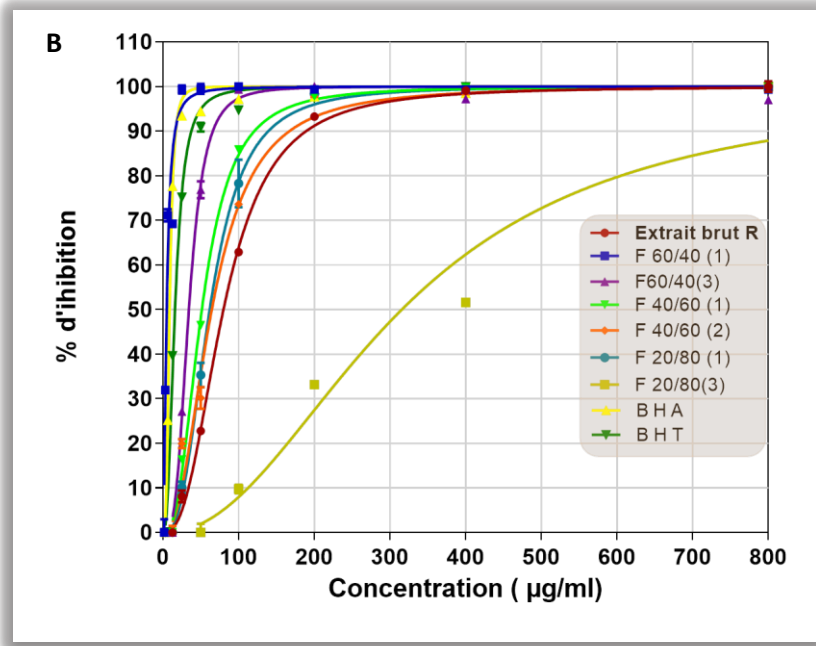


Figure III-162 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH' des extraits des racines de *Scabiosa semipapposa*.

La CI_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre DPPH de 50 %. Les valeurs les plus faibles de la CI_{50} indiquent une meilleure efficacité d'un extrait et ainsi un pouvoir antioxydant plus fort. Les valeurs des CI_{50} obtenues permettent de classer la capacité de piégeage du radical DPPH entre les extraits testés et par rapport aux standards.

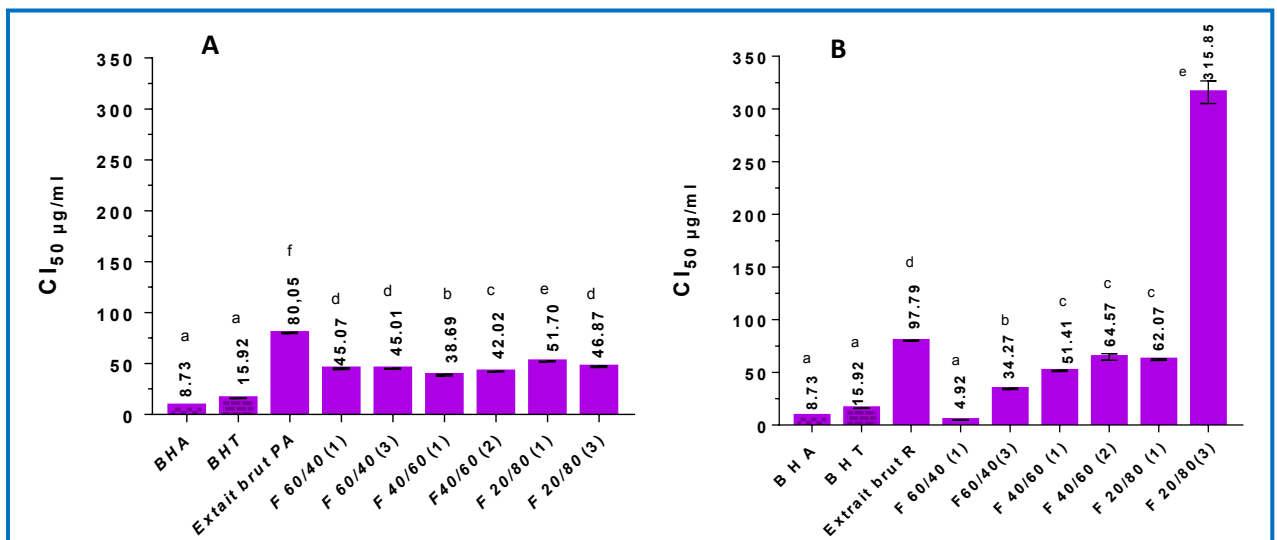


Figure III-163 : Valeurs des CI_{50} des différentes parties testé pour DPPH' (aériennes **A** et Racine **B**) de *S.semipapposa*. Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

Dans les parties aériennes l'activité anti-radicalaire la plus élevée a été mise en évidence dans la fraction **40/60 (1)** ($38,69 \pm 0,88 \mu\text{g/ml}$), tandis que les **F 40/60 (2)**, **F 60/40 (1)**, **F 60/40 (2)** et **F 20/80 (3)** présentent des capacités antioxydantes assez proches avec des CI_{50} qui varient entre $42,15 \pm 0,16$ et $46,88 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$ et la **F20/80 (1)** avec une CI_{50} de $52,03 \pm 0,27 \mu\text{g/ml}$. L'extrait brut a montré la plus faible activité antioxydante avec une CI_{50} de $80,04 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$ (Figure III-163 A).

Au niveau des racines, c'est plutôt la **F 60/40 (1)** qui exhibe un meilleur effet scavenger avec une CI_{50} de l'ordre de $4,92 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$ qui est 3 fois moins que celle du BHT ($15,92 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) et presque 2 fois moins que celle du BHA ($8,73 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$) (Figure III-163 B).

L'analyse des coefficients de corrélations entre les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux avec les valeurs des CI_{50} obtenues par le test du DPPH montre des corrélations négatives moyennes aussi bien pour les parties aériennes que pour les parties souterraines ($r = -0,113$, $r = -0,6425$ et $r = -0,7748$, $r = -0,587$, respectivement). Les travaux de [wang et al. \(2017\)](#) ont montré également que les extraits brut de *S. tschiliensis* possèdent des CI_{50} qui varient entre $25,68 \pm 1,21 \mu\text{g/ml}$ à $86,79 \pm 1,29 \mu\text{g/ml}$ et ont rapporté des corrélations faibles pour les taux des polyphénols et des flavonoïdes ce qui suggère que la capacité antioxydante observée dans la présente étude serait due à un autre type de molécules.

Nos résultats sont similaires à ceux de [Lehbili et al. \(2018\)](#) qui ont travaillé sur l'extrait brut et les fractions de *S. stellata* et qui ont rapporté des valeurs de CI_{50} qui varient de $25,0 \pm 0,8$ à $133 \pm 2,6 \mu\text{g/ml}$ avec une $CI_{50} = 86,00 \pm 1,8 \mu\text{g/ml}$ de l'extrait brut proche de celle de l'extrait brut des parties aériennes de *S. semipapposa*. D'autres ont travaillé sur la même espèce *S. stellata* et ont obtenu d'importants effets scavenger [[Moufouk et al., 2018](#); [Rahmounia et al., 2018](#)].

Les résultats de la présente étude sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par [Hlila et al. \(2013 et 2015\)](#). En effet, ces auteurs ont étudié les extraits brut et leurs fractions, acétate d'éthyle, n-butanolique (fleur, fruit, tige et feuilles, racines) de l'espèce *S. arenaria* et ont rapporté des CI_{50} qui varient de $17 \pm 0,01$ à $36 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ pour les parties aériennes et de $19 \pm 0,01$ à $26 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ pour les parties souterraines. Ils ont également constaté une faible corrélation avec les polyphénols et les flavonoïdes totaux dans les parties aériennes, alors que la corrélation était significative dans les racines.

III.3.1.3.2 Capacité scavenger du radical ABTS⁺

Les résultats du test ABTS montrent que la majorité des extraits testés expriment des capacités antioxydantes plus importantes à l'égard du radical ABTS, toutefois, ces résultats restent inférieures à ceux des standards utilisés (BHA et BHT) (Figure III-164 et Figure III-165).

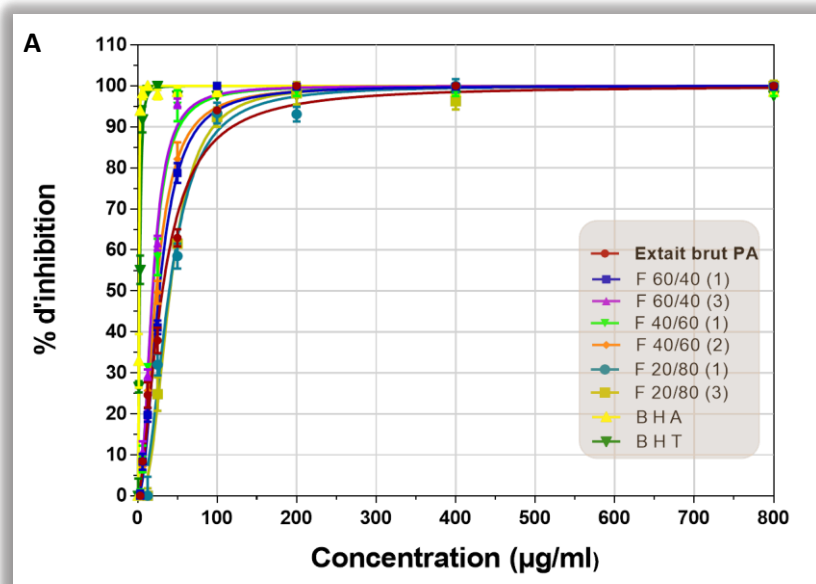


Figure III-164 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ des extraits des parties aériennes de *Scabiosa semipapposa*.

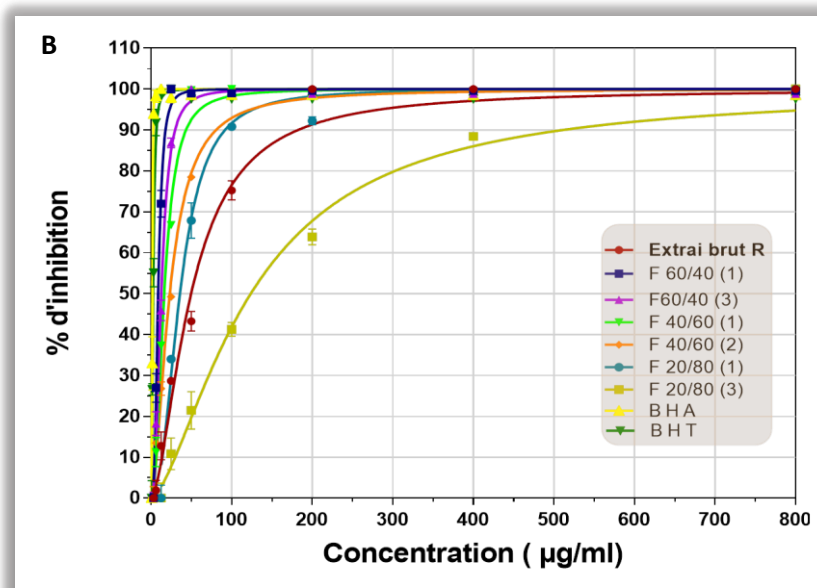


Figure III-165 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ des extraits des racines de *Scabiosa semipapposa*.

La Figure III- 166 montre que la fraction la plus active est la **F60/40 (1)** avec une CI_{50} de $8,59 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$. Alors que la **F 20/80 (3)** exprime la plus faible activité antioxydante avec une CI_{50} de $124 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$ des racines de *Scabiosa semipapposa*.

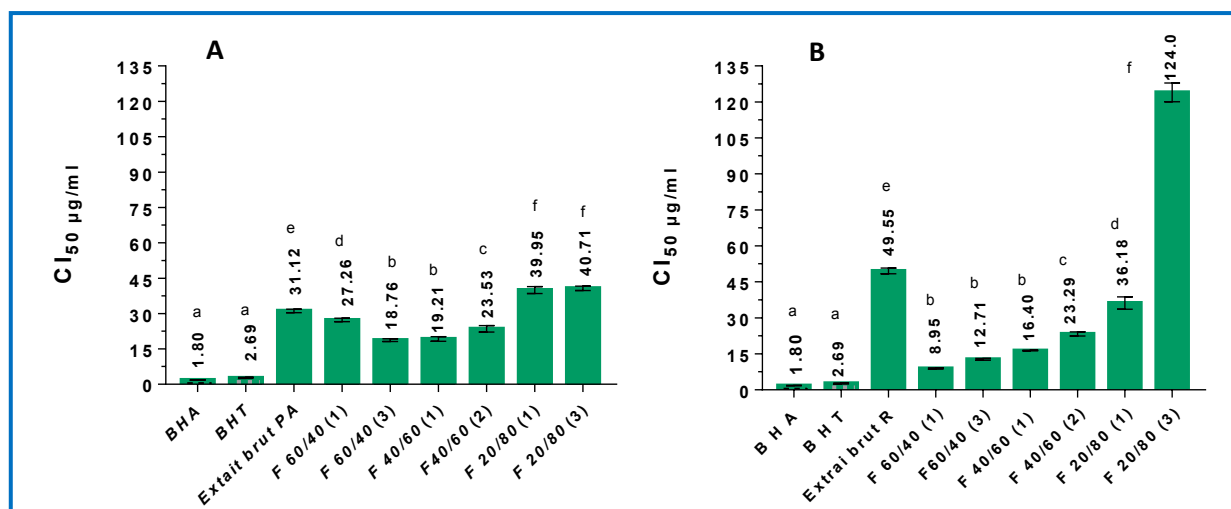


Figure III- 166 : Valeurs des CI_{50} des différentes parties testées à l'égard du radical ABTS (**A** aériennes et **B** racines) de *S.semipapposa*. Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

Concernant les parties aériennes, nous remarquons que l'activité antioxydante varie légèrement entre les différents extraits. La plus forte activité antioxydante est observée dans les fractions **F 60/40 (1)** et **F40/60 (1)** avec des CI_{50} de $18,76 \pm 0,57$ et de $19,21 \pm 1,01 \mu\text{g/ml}$, respectivement suivie par la **F40/60 (2)**, **F 60/40 (1)** et l'extrait brut avec des CI_{50} de l'ordre de $23,53 \pm 1,34$, $27,26 \pm 0,74$ et $31,12 \pm 0,74 \mu\text{g/ml}$, respectivement. Pour ce qui est des fractions **F20/80 (1)** et **(3)**, elles expriment des CI_{50} presque égales de l'ordre de $39,95 \pm 1,48$ et $40,71 \pm 0,94 \mu\text{g/ml}$, respectivement (Figure III-166 A).

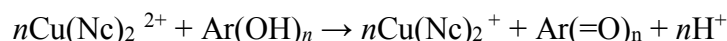
Pour ce qui est des racines, on constate que la **F 60/40 (1)** est la fraction la plus active avec une CI_{50} de $8,95 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$. Les fractions **60/40 (3)** et **40/60 (1)** présentent des CI_{50} de $12,71 \pm 0,37$ et de $16,40 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$, respectivement. La fraction **40/60 (2)** présente une CI_{50} similaire à celle de la même fraction de la partie aérienne (Figure III-166 B).

Les CI_{50} obtenues pour l'ensemble des extraits fractions dans le test de l'ABTS semblent inférieures à celles du DPPH ce qui indique une meilleure activité antiradicalaire, toutefois, ces résultats montrent aussi des faibles corrélations avec les teneurs des polyphénols et des flavonoïdes totaux pour les parties aériennes et moyennes pour les parties souterraines ($r = -0,1058$, $r = -0,1399$, $r = -0,7928$, et $r = -0,5485$, respectivement).

Les fractions aériennes **F20/80 (1)**, **F (3)** et **F 60/40 (1)** expriment des valeurs de CI_{50} de $39,95 \pm 1,48$, $40,71 \pm 0,94$, et $27,26 \pm 0,74$, respectivement. Ces valeurs sont similaires à celles obtenues par [Rahmounia et al. \(2018\)](#) avec l'extrait acétate ($40,41 \pm 0,02$ $\mu\text{g/ml}$) et l'extrait n-butanolique ($27,87 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$) de la plante *S. stellata*. Alors que les fractions souterraines **F60/40 (3)** et **F 40/60 (2)** expriment des valeurs de $12,71 \pm 0,37$ $\mu\text{g/ml}$ et $23,29 \pm 0,86$ $\mu\text{g/ml}$ qui sont proches de celles obtenues par [Moufouk est al. \(2018\)](#) pour les mêmes extraits de *S. stellata* ($14,00 \pm 0,8$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait acétate et $24,99 \pm 0,36$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait n-butanolique). La **F 20/80 (1)** souterraine, la **F 20/80 (3)** et l'extrait brut des parties aériennes présentent des valeurs de $36,18 \pm 2,58$ $\mu\text{g/ml}$, $40,71 \pm 0,94$, $\mu\text{g/ml}$, et $31,12 \pm 0,74$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement. Ces résultats sont équivalents à ceux de [Hila et al. \(2013, 2015\)](#) obtenu avec l'extrait acétate ($34 \pm 0,03$ $\mu\text{g/ml}$) et l'extrait n-butanolique ($40 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$) des racines de *S. arenaria*. D'autre part, nos résultats expriment des capacités antioxydantes supérieures à celles de la fraction acétate des fleurs de *S. arenaria* ($54 \pm 0,05$ $\mu\text{g/ml}$) et de la fraction acétate de *S. tschilienses* ($58,76 \pm 1,78$ $\mu\text{g/ml}$) [[wang et al., 2017](#)].

III.3.1.3.3 Capacité de réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)

L'activité réductrice a été étudiée par une méthode impliquant un réactif beaucoup plus stable et facilement accessible (le complexe $[\text{Cu}^{2+}\text{-Nc}]$) que les réactifs radicalaires chromogènes ABTS et DPPH. L'absorbance du chélate Cu (I) -Nc de couleur orange-jaune formé à la suite de la réduction du réactif néocuproïne cuivrique avec des antioxydants agissant comme agents réducteurs est mesurée à 450 nm [[Apak et al. 2013](#)].



Les concentrations qui correspondent aux $A_{0.5}$ nécessaires pour réduire 50% du complexe (néocuproïne cuivrique) sont déterminées à partir des courbes tracées en fonctions des absorbances. La forte sensibilité du réactif néocuproïne cuivrique aux substances antioxydantes dans certains échantillons, nous a contraints d'établir une gamme de dilution beaucoup plus étendue.

D'après les [Figures III-167 et III-168](#), il ressort que tous les extraits possèdent une capacité réductrice mais moins importante que celles des standards. La variation entre les extraits est plus significative dans les racines que dans les parties aériennes.

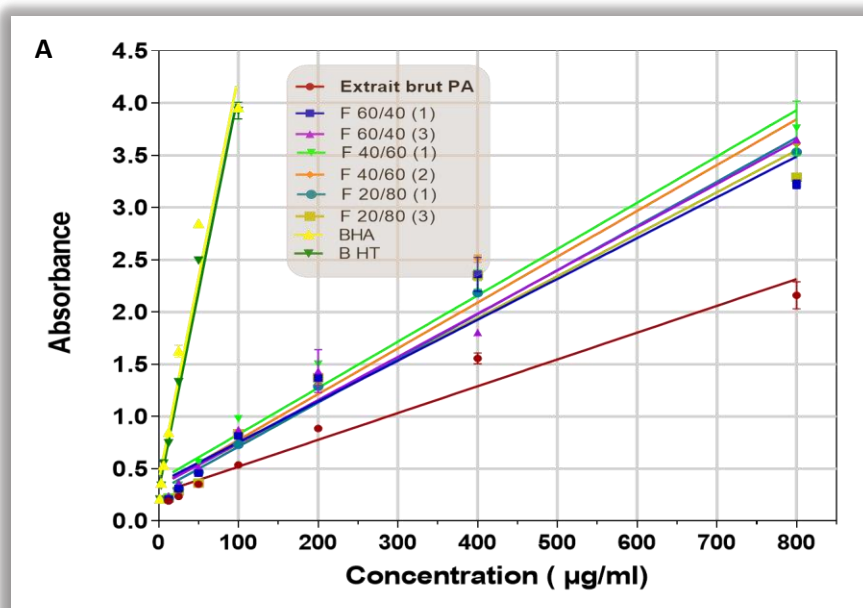


Figure III-167 : Capacité réductrice de l’ion cuprique (CUPRAC) des extraits des parties aériennes de *S.semipapposa*.

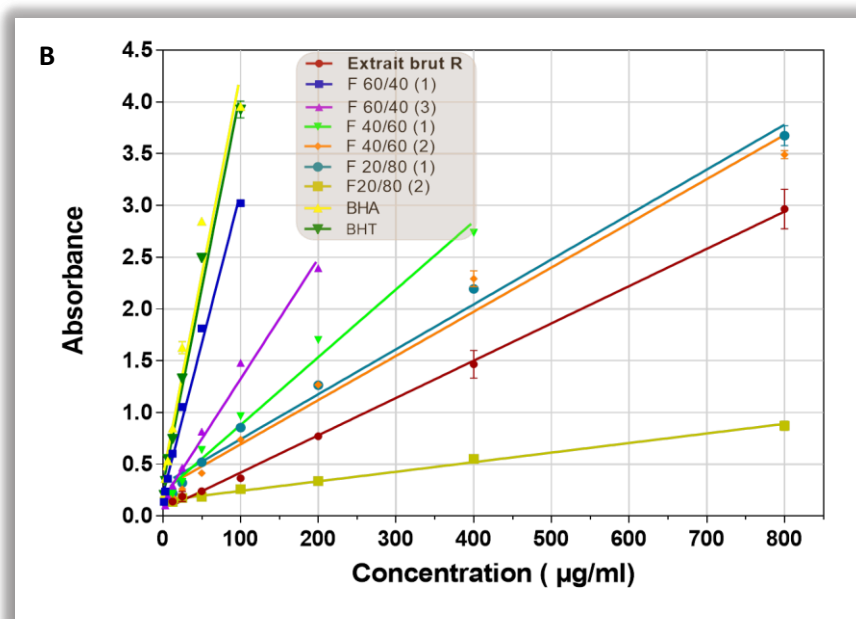


Figure III-168 : Capacité réductrice de l’ion cuprique (CUPRAC) des extraits des racines de *S.semipapposa*.

La Figure III-169 reprend les valeurs des CI₅₀ des différentes parties aériennes et souterraines de *S.semipapposa*. Nous pouvons voir que la **F 60/40 (1)** des racines est toujours la

plus active et montre un pouvoir réducteur plus important ($10,16 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$) que celui des autres extraits alors que la **F 20/80 (3)** souterraine montre encore le plus faible pouvoir réducteur.

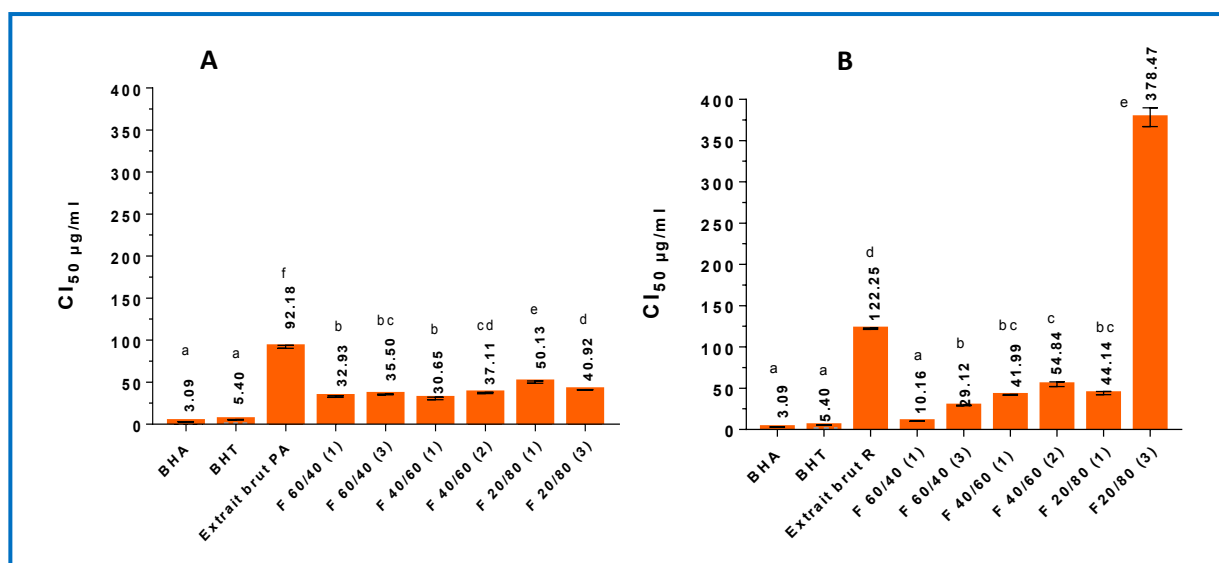


Figure III-169 : Valeurs des CI_{50} des différentes parties testé pour CUPRAC (aérienne **A** et Racine **B**) de *S.semipapposa*. Les lettres (a-f) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0.05$).

Concernant les parties aériennes, le pouvoir réducteur le plus élevé est enregistré par les **F 40/60 (1)** et la **F 60/40 (1)** exprimant des valeurs d' $A_{0.5}$ très proches de l'ordre de $30,65 \pm 1,48$ et $32,93 \pm 1,06 \mu\text{g/ml}$, suivi par celui des **F 60/40 (3)** et **40/60 (2)** ($35,50 \pm 0,50$ et $37,11 \pm 0,76 \mu\text{g/ml}$, respectivement). La **F 20/80 (3)**, **F 20/80 (1)** et l'extrait brut montrent les valeurs d' $A_{0.5}$ de l'ordre de $40,92 \pm 0,22$, $50,13 \pm 1,47$, et $92,18 \pm 1,75 \mu\text{g/ml}$, respectivement (Figure III-169 A).

Pour ce qui est des parties souterraines, la **F60/40 (1)** exhibe le plus grand pouvoir réducteur ($30,65 \pm 1,48$) suivi par celui de la **F60/40 (3)** ($29,12 \pm 0,38 \mu\text{g/ml}$), la **F 40/60 (1)** ($41,99 \pm 0,42$) et la **F 20/80 (1)** ($44,14 \pm 1,86$) qui présentent un pouvoir réducteur qui avoisine celui de la fraction aérienne **F20/80 (3)**. La **F 40/60 (2)** montre un pouvoir proche de celui de la **F20/80 (1)** aérienne. Le plus faible pouvoir réducteur est observé dans l'extrait brut et la **F 20/80 (3)** avec des valeurs d' $A_{0.5}$ de l'ordre de $122,25 \pm 1,01$ et $378,47 \pm 11,39 \mu\text{g/ml}$ respectivement (Figure III-169 B).

Nos résultats pour les fractions souterraines **F60/40 (3)** ($29,12 \pm 0,38 \mu\text{g/ml}$), **F40/60 (1)** ($41,99 \pm 0,42 \mu\text{g/ml}$) et **F20/80 (1)** ($44,14 \pm 1,86 \mu\text{g/ml}$) et la **F20/80 (3)** aérienne ($40,92 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$) s'avèrent semblables à ceux obtenus avec la fraction acétate et l'extrait n-butanolique ($28,50 \pm 1,24$, $42,16 \pm 3,06 \mu\text{g/ml}$) de *Scabiosa stellata* [Moufouk est al., 2018]. Aucune

corrélation significative entre polyphénols et flavonoïdes et l'activité réductrice n'a pu être démontré ($r = -0,2149$, $r = -0,5439$, $r = -0,7559$, $r = -0,5724$).

De ces résultats, nous pouvons retenir que les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes dans les 14 extraits de *S.semipapposa* sont particulièrement visibles dans la fraction aérienne **F40/60 (1)** et la fraction souterraine **F60/40 (1)** alors que la fraction souterraine **F20/80 (3)** réfère la plus faible quantité en phénols et en flavonoïdes ([Annexe 2: Tableau III-26](#)). D'autre part, il a été constaté que fraction souterraine **F60/40 (1)** est la plus active dans tous les tests alors que la **F 20/80 (3)** est celle qui présente le plus faible pouvoir antioxydant. La fraction aérienne **F40/60 (1)** et les fractions **F60/40 (3)**, **F40/60 (1)** et **F40/60 (2)** aériennes et souterraines possèdent pouvoir antioxydant équivalents ([Annexe 2: Tableau III-27](#)).

III.3.1.4 Teneur en phénols totaux de *Tuberaria guttata*

Les teneurs en phénols totaux de l'extrait brut et des fractions de *Tuberaria guttata* sont représentées dans la [Figure III-170](#).

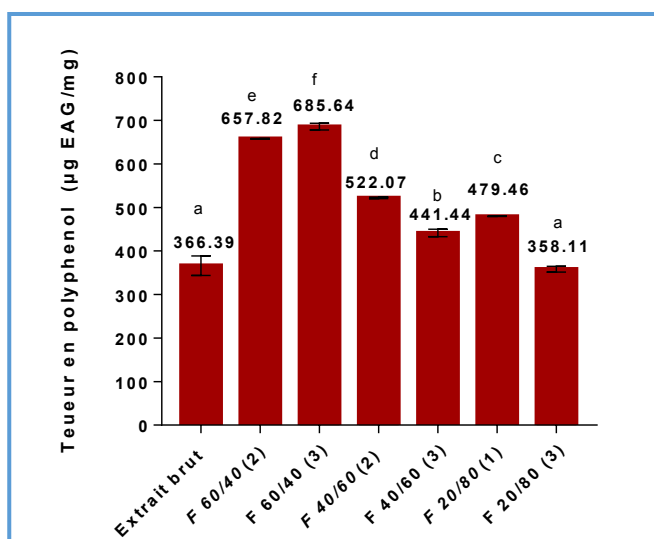


Figure III-170 : Teneurs en composés phénoliques de l'extrait brut et des fractions de *Tuberaria guttata*.

La teneur en phénols totaux de l'extrait brut et des fractions de *Tuberaria guttata* varie entre $358,11 \pm 6,51$ et $685,64 \pm 7,89$ µg EAG/g d'extrait ([Figure III-170](#)). Les résultats montrent que tous les extraits étudiés sont riches en polyphénols. En effet les fractions **60/40 (2)** et **(3)** contiennent les proportions les plus élevées ($657,82 \pm 0,92$, $685,64 \pm 7,89$ µg EAG/g, respectivement). Les fractions **40/60 (2)**, **20/80 (1)** et **40/60 (3)** montrent des quantités de l'ordre

de $522,07 \pm 1,69$, $479,46 \pm 0,27$, $441,44 \pm 8,75$ $\mu\text{g EAG/g}$, respectivement. Par ailleurs la **F 20/80 (3)** présente une teneur de $358,11 \pm 6,51$ $\mu\text{g EAG/g}$ qui est proche de celle de l'extrait brut.

III.3.1.5 Teneurs en flavonoïdes totaux de *Tuberaria guttata*

Les teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait brut et des fractions de *Tuberaria guttata* sont données dans la [Figure III-171](#).

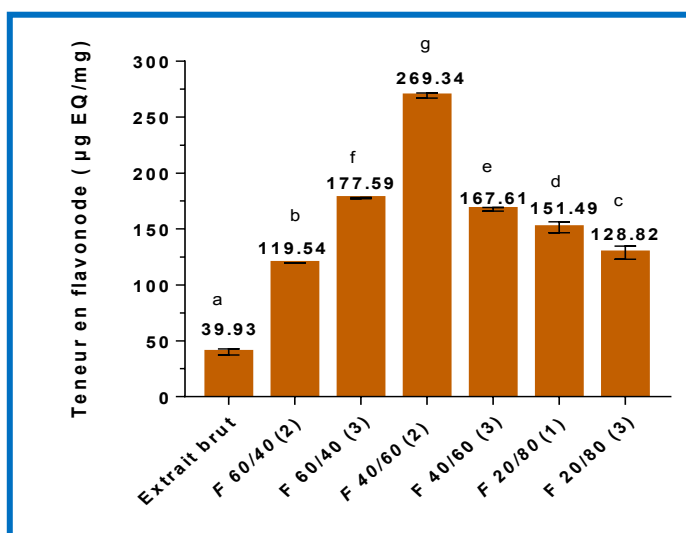


Figure III-171: Teneurs en composés flavonoïdes de l'extrait brut et des fractions de *Tuberaria guttata*.

La teneur en flavonoïdes totaux varie d'un extrait à un autre. La fraction **40/60 (2)** montre la plus forte teneur en flavonoïdes avec une concentration moyenne de $269,34 \pm 2,26$ $\mu\text{g EQ/mg}$ suivi de la **F 60/40 (3)** ($177,59 \pm 0,60$ $\mu\text{g EQ/mg}$), **F 40/60 (3)** ($167,61 \pm 1,70$ $\mu\text{g EQ/mg}$) et **F20/80 (1)** ($151,49 \pm 4,91$ $\mu\text{gEQ/mg}$). Les fractions **20/80 (3)** et **60/40 (2)** présentent des quantités presque équivalentes soit $128,82 \pm 5,89$ $\mu\text{g EQ/mg}$ et $119,54 \pm 0,15$ $\mu\text{g EQ/mg}$, respectivement). L'extrait brut est le moins riche en flavonoïdes avec une teneur moyenne de $39,93 \pm 2,68$ $\mu\text{g EQ/mg}$ ([Figure III-171](#)).

III.3.1.6 Pouvoir antioxydant de *Tuberaria guttata*

III.3.1.6.1 Capacité scavenger du radical DPPH^{*}

Les résultats de l'activité anti-radicalaire de l'extrait brut ainsi que des six fractions de *Tuberaria guttata* exprimés en pourcentages d'inhibition sont représentés dans la [Figure III-172](#).

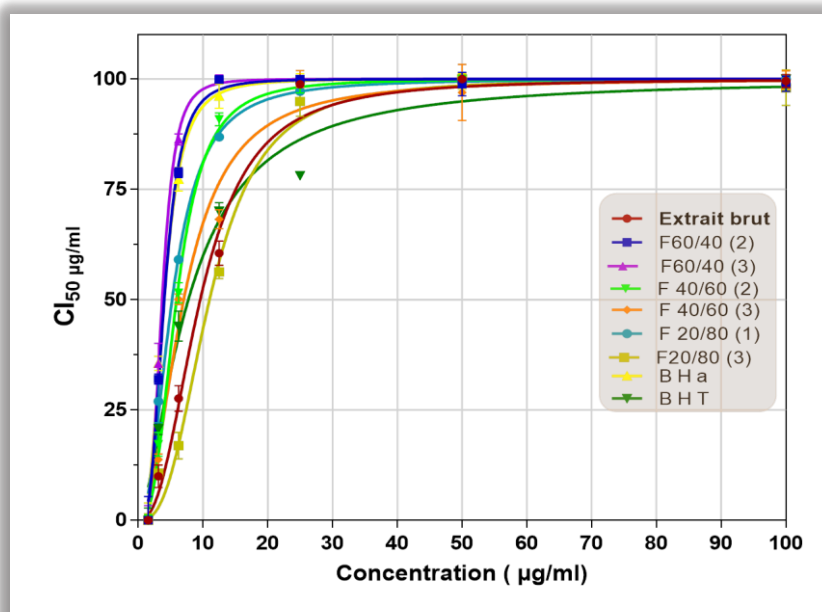


Figure III-172 : Courbes de pourcentage d’inhibition du radical DPPH’ par les extraits de *Tuberaria guttata*.

Les résultats de la Figure III-172 montrent que l'effet anti-radicalaire des fractions 60/40 (2) et F 60/40 (3) augmentent significativement pour atteindre les taux les plus élevés à partir de 12µg/ml. Cet effet est supérieur au reste des extraits et des standards utilisés.

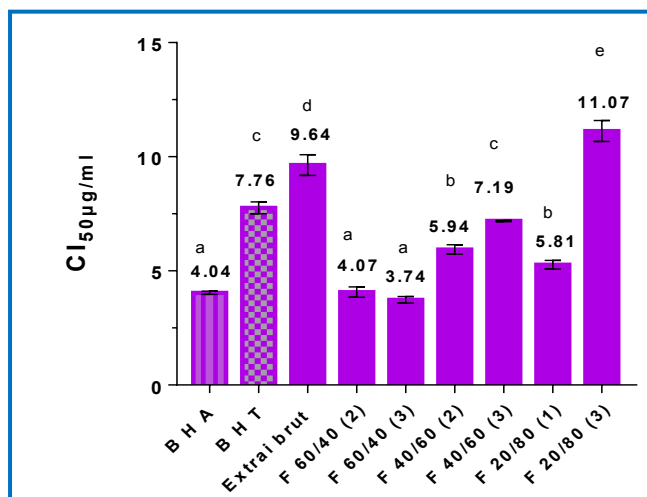


Figure III-173 : Valeurs des CI₅₀ des différents extraits de *T.guttata* testés pour le DPPH. Les lettres (a-e) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0,05).

Les valeurs des CI₅₀ révèlent que tous les extraits testés ont une très bonne capacité antioxydante, qui peut même pour certaines fractions dépasser celles des standards, c’est le cas de la F60/40 (3) qui a montré une CI₅₀ de l’ordre de 3,73±0,15 µg/ml. La F60/40 (2) a montré une CI₅₀ de l’ordre de 4,07±0,23µg/ml, semblable à celle du BHA (4,04±0,07µg/ml), et deux fois

moins élevée que celle du BHT ($7,76 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$). Les fractions **40/60 (2)** et **20/80 (1)** présentent presque la même activité avec des CI_{50} de l'ordre de $5,94 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$ et $5,81 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$, respectivement.

Là aussi, l'extrait brut et la **F 20/80 (3)** semblent les moins actifs et ont montré des CI_{50} de l'ordre de $9,64 \pm 0,45 \mu\text{g/ml}$ et de $11,07 \pm 0,38 \mu\text{g/ml}$, respectivement (Figure III-173).

De ces résultats, nous pouvons affirmer que l'espèce *T. guttata* est doté d'un potentiel antioxydant très intéressant, lorsqu'on compare ces résultats notamment à ceux de **Pinela et al. (2012)** qui ont travaillé sur l'espèce *Tuberaria lignosa* et ont obtenu des $\text{CI}_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$ des extraits aqueux préparés par décoction ou infusion.

Les coefficients de corrélations établis entre les CI_{50} et les teneurs totaux en polyphénols et en flavonoïdes montrent d'une part l'existence d'une forte corrélation avec les polyphénols ($r = -0,938$) et d'autre part une faible corrélation avec les flavonoïdes ($r = -0,4405$). Selon **Turkmen et al. (2007)**, les polyphénols semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur structure chimique.

III.3.1.6.2 Capacité scavenger du radical ABTS^{•+}

En raison de la forte sensibilité du radical cationique ABTS^{•+} aux extraits et fractions étudiés, il a été nécessaire d'établir une gamme de dilution beaucoup plus étendue que celle du test précédent afin de déterminer les CI_{50} (Figure III-174).

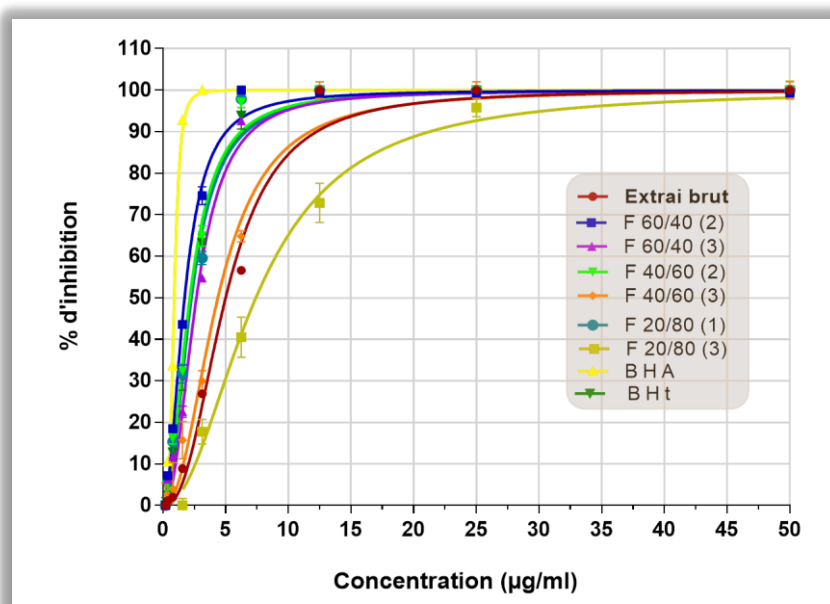


Figure III-174: Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} par les extraits de *Tuberaria guttata*.

Dans ce test, nous constatons que tous les extraits expriment un pouvoir antioxydant important qui se traduit par des valeurs de CI_{50} très faibles. Nous pouvons voir que la **F60/40 (2)**

exprime le pouvoir antioxydant le plus élevé avec une CI_{50} de l'ordre de $1,72 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$. Contrairement à la **F20/80 (3)** qui montre la plus faible capacité antioxydante ($7,42 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$). Les **F40/60 (2)**, **F20/80 (1)**, et **F60/40 (3)** exhibent un pouvoir antioxydant similaire au BHT ($2,27 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) avec des CI_{50} de $2,14 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$, $2,26 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$, et $2,67 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$, respectivement (Figure III-175).

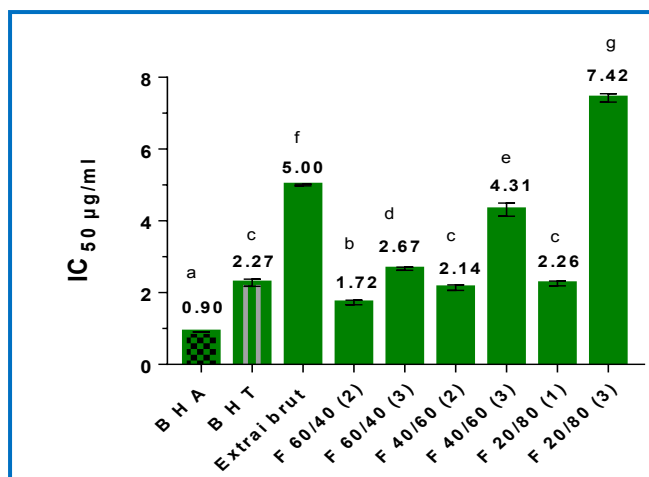


Figure III-175 : Valeurs des CI_{50} des différents extraits de *T. guttata* testés pour l'ABTS. Les lettres (a-g) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

L'extrait brut et la **F40/60 (3)** montrent des pouvoirs antioxydants presque équivalents avec des valeurs de CI_{50} de $5,00 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$ et $4,31 \pm 0,18$, respectivement. Ces valeurs sont inférieures à celle obtenue avec l'extrait éthanolique des feuilles et des fleurs d'*Halimium halimifolium* (Cistaceae) respectivement [Rebaya et al., 2014].

Tous les extraits testés, à l'exception de la **F 20/80 (3)**, ont montré une activité antiradicalaire nettement supérieure à celle obtenue avec les extraits aqueux et méthanolique de 11 espèces d'*Helianthemum* (Cistaceae) dont les CI_{50} évoluent entre 6,15 et 108,65 $\mu\text{g/ml}$ [Rubio-Moraga et al., 2013].

Les extraits montrent que l'activité scavenger du radical ABTS présente une corrélation moyenne avec les polyphénols totaux ($r = -0,7753$) et une corrélation faible avec flavonoïdes ($r = -0,4297$).

III.3.1.6.3 Capacité de réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)

La Figure III-176 montre que tous les extraits renferment une bonne capacité réductrice.

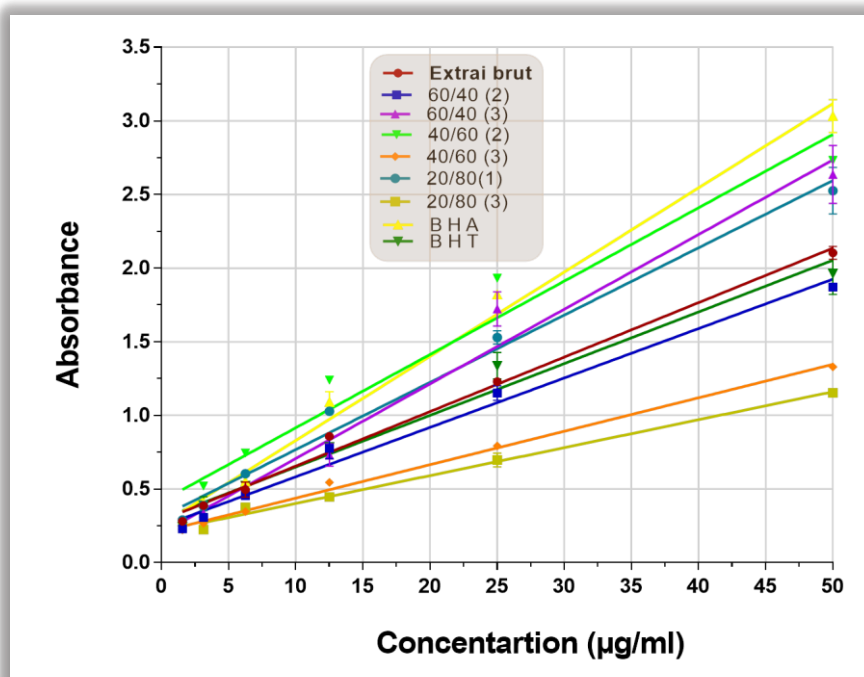


Figure III-176 : Capacité réductrice de l'ion cuprique(CUPRAC) des différents extraits de *T.guttata*

D'après les CI_{50} calculées (Figure III-177) il ressort que la F 40/60 (2) et la F20/80 (1) renferme le pouvoir réducteur le plus élevé ($1,64 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$ et $4,14 \pm 0,8 \mu\text{g/ml}$, respectivement) qui est supérieur à celui du BHA ($4,23 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) et du BHT ($5,74 \pm 0,27 \mu\text{g/ml}$). L'extrait brut et la F 60/40 (3) possèdent également un pouvoir réducteur équivalent à celui du BHT suivie de celui de la F 60/40 (2) ($7,51 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$). La F 60/40(3) et la F 20/80 (3) expriment le plus faible pouvoir réducteur.

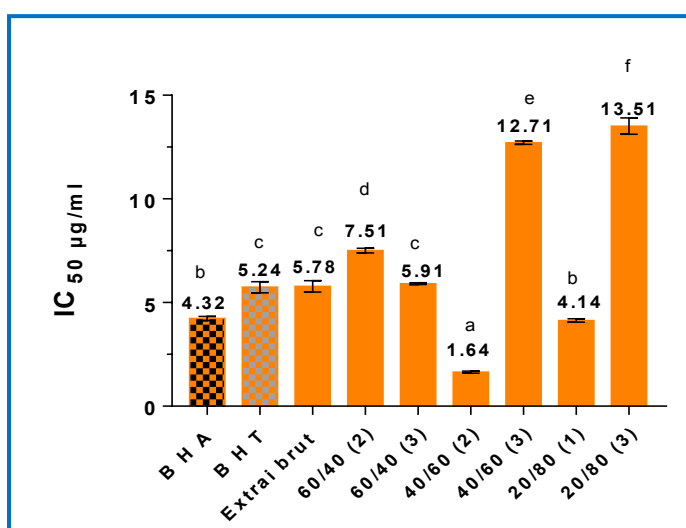


Figure III-177 : Valeurs des CI_{50} des différents extraits de *T.guttata* testés pour le test CUPRAC. Les lettres (a-g) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

Dans le test CUPRAC, les coefficients de corrélations révèlent la présence d'une corrélation faible avec les teneurs en polyphénols et flavonoïdes ($r = -0,4066$, $r = -0,3171$).

Bien que les extraits étudiés réfèrent une très bonne activité anti-radicalaire et un bon pouvoir réducteur, mais les faibles corrélations de ces derniers avec les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes, suggère que ce pouvoir antioxydant n'est pas limité uniquement aux polyphénols et aux flavonoïdes mais plutôt à d'autres types de molécules au sein des extraits tels que les tanins condensés détectés par une coloration rouge sur la CCM (Figure II-25, page 81). D'autres études ultérieures ont isolé les tanins hydrosolubles à partir d'une espèce appartenant au genre *Tuberaria* (*Tuberaria lignosa*) [Bedoya et al.,2010] [Pinela et al., 2017] et ont souligné leur forte capacité scavenger des radicaux libres [Kulkarni et al.,2004 ; Wang et al.,2013 ;Mena et al.,2013 ;Vora et al., 2015].

III.3.1.7 Inhibition de l'alpha glucosidase.

L'alpha-glucosidase est une enzyme localisée au niveau des intestins et est nécessaire pour hydrolyser les oligosaccharides et les polysaccharides en monomères. L'inhibition de cette enzyme par des inhibiteurs commerciaux tel que l'acarbose, ralentit la vitesse d'absorption des glucides alimentaires, réduisant ainsi l'élévation glycémique postprandiale et la réponse insulinaire. L'acarbose a été longtemps utilisé avec succès, non seulement dans le traitement des diabètes de type I et de type II, mais également dans celui des hypoglycémies fonctionnelles [Brogard et al., 1989], toutefois, en raison des effets secondaires gastro-intestinales liés à l'utilisation prolongée de ces inhibiteurs, les travaux de recherche s'intéressent au développement de nouvelles molécules alternatives notamment des molécules d'origine naturelle.

Dans la présente étude, seuls les extraits de *T.guttata* sont testés pour l'activité antiglucosidase. D'après les courbes ci-dessous (Figure III-178), nous pouvons voir que tous les extraits possèdent une activité inhibitrice à l'égard de l'alpha glucosidase et qui est largement supérieure à celle de l'acarbose et de la quercétine.

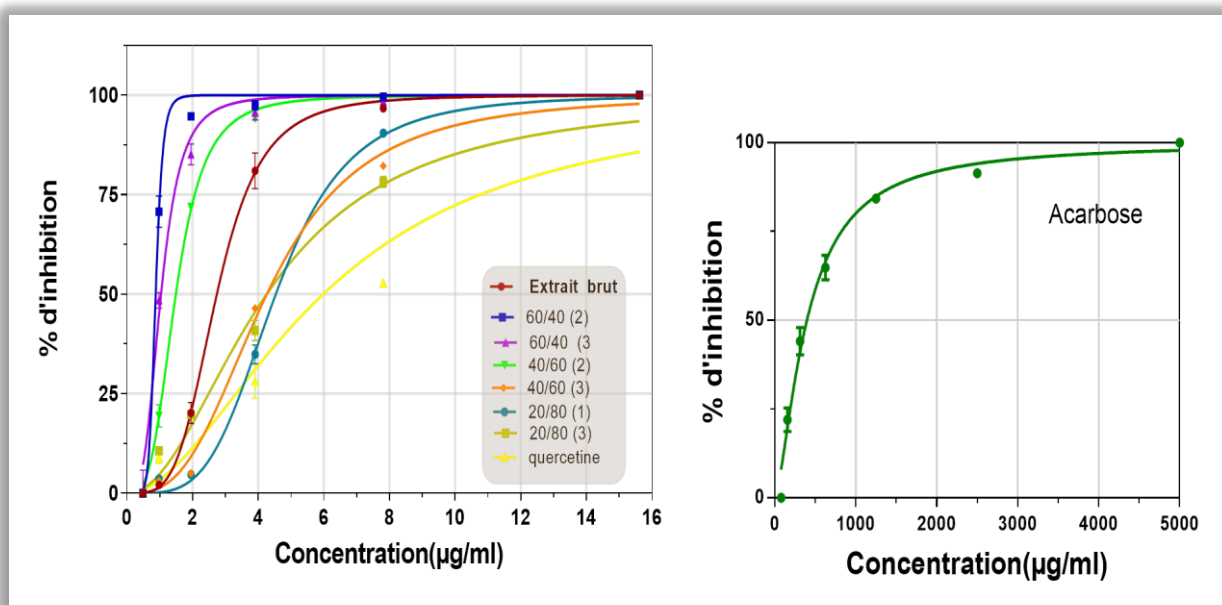


Figure III-178 : Courbes de pourcentage d’inhibition de l’ α -glucosidase des différents extraits et les standards ; quercetine et acarbose.

Tous les extraits montrent une CI_{50} inférieure à celle de la quercétine et de l’acarbose (Figure III- 179). La F **60/40 (2)** montre la plus grande activité anti-glucosidase (0,88 µg/ml), suivi de la F **60/40 (3)**, **F40/60 (2)**, et de l’**extrait brut** avec des CI_{50} de $1,04 \pm 0,04$, $1,49 \pm 0,03$, et $2,74 \pm 0,04$ µg/ml, respectivement. La F **40/60(3)** et F **20/80 (3)** montrent des activités similaires ($4,26 \pm 0,02$ µg/ml et $4,26 \pm 0,17$ µg/ml, respectivement). La F **20/80 (1)** est celle qui exprime le plus faible pouvoir inhibiteur avec une CI_{50} égale à $4,54 \pm 0,10$ µg/ml.

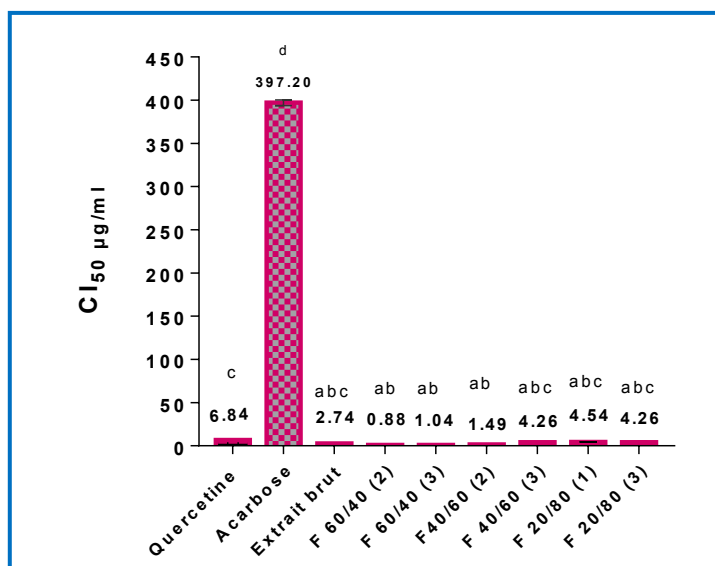


Figure III-179 : Valeurs des CI_{50} des différents extraits de *T.guttata* testés pour l’activité anti-glucosidase. Les lettres (a-d) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0,05$).

Les coefficients de corrélation établis entre les CI_{50} et les quantités de polyphénols et flavonoïdes montrent une corrélation moyenne avec les polyphénols ($r = -0,7726$) et une très faible corrélation avec les flavonoïdes ($r = -0,2109$).

Les résultats de l'étude phytochimique de l'espèce *T.guttata* montrent que les polyphénols se localisent beaucoup plus dans la **F 60/40 (2)**, **F 60/40 (3)**, **F 40/60 (2)** et **F 20/80 (1)** par comparaison avec la **F 40/60 (3)** et **F 20/80 (3)** tandis que les quantités les plus élevées en flavonoïdes sont trouvées dans la **F 40/60(2)**, **F 40/60 (3)** et la **F 20/80 (3)** (Annexe 2 :Tableau III-28).

L'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de *T.guttata* montrent que ces derniers possèdent des activités antioxydantes intéressantes. Dans les tests du **DPPH** et de l'**ABTS**, les fractions **60/40 (2)**, **60/40 (3)**, **40/60 (2)** et **20/80 (1)** présentent des CI_{50} très proches de celles du BHA et BHT. Par ailleurs le grand pouvoir réducteur est exhibé par la **F 60/40 (3)**, **F 40/60 (2)** et **F 20/80 (1)** avec des CI_{50} de l'ordre de $5,91 \pm 0,04$, $1,64 \pm 0,04$ et $4,14 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement, supérieures à celle des standards **BHA** ($4,23 \pm 0,10$ $\mu\text{g/ml}$) et **BHT** ($5,74 \pm 0,27$ $\mu\text{g/ml}$). En ce qui concerne l'activité antiglycosidase, les fractions les plus actives sont les fractions les plus polaires ; **F 60/40 (2)**, **F 60/40 (3)** et **F 40/60 (2)** avec des CI_{50} appréciables ($0,88 \pm 0,01$, $1,04 \pm 0,04$ et $1,49 \pm 0,03$, respectivement) et qui sont largement supérieures à celles de l'acarbose et de la quercétine.

-A-

- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah,S.(2018).** Analyse Quantitative Des Composés Phénoliques D'une Endémique Algérienne *Scabiosa Atropurpurea* Sub. Maritima L. *Bulletin De La Société Royale Des Sciences De Liège*, 87,13 -21.
- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K.M., Özyürek, M., Güçlü, K. (2013).** Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 85(5), 957-998.
- Apak, R., Guculu, K., Ozyurek, M., Karademir.S.E, Ercag,E. (2006)** .The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 57,(5/6), 292-304.
- Apak, R., Guculu, K., Ozyurek, M., Karademir.S.E. (2004).** Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of agricultur and food chemistry*. 52 , 7970-7981.

-B-

- Bedoya, L.M., Abad, M.J., Sánchez-Palomino, S., Alcamí, J., Bermejo, P. (2010).** Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV. *Phytomedicine*. 17, 69–74.
- Brogard, J.M.,Willemin, B., Blickle, J.F. , Lamalle, A.M., Stahl, A.(1989).**Inhibiteurs des alpha -glucosidases une nouvelle approche thérapeutique du diabète et des hypoglycémies fonctionnelle. *Revue de Medecine Interne*. 10, 365-74.

-H-

- Hlila, M.B., Omri,A., Ben Jannet, H., Lamari,A., Aouni,M., Selmi,B.(2013).** Phenolic composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of the Tunisian *Scabiosa arenaria*. *Pharmceutical Biology*. 51(5), 525–532.
- Hlila, M.B., Omri,A., Ben Jannet, H., Lamari,A., Aouni,M., Selmi,B.(2015a).** Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of roots extracts from the Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk Malek Besbes. *Industrial Crops and Products*. 67, 62–69.
- Hlila,M.B., Mosbah,H., Majouli,K., Ben Nejmac,A., Ben Jannetc,H., Mastouria, M., Aounia,M., Selmi,B. (2016)** .Antimicrobial activity of *Scabiosa arenaria* Forssk. Extracts and pure compounds using bioguided fractionation .*Chemistry and Biodiversity* .13(10), 1262-1272.

-K-

Kulkarni, A.P., Aradhya, S. M., Divakar, S. (2004). Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant – punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit, *Food Chemistry*.87, 551–557.

-L-

Lehbili ,M., Alabdul Magid ,A, Jane Hubert, Kabouche,A., Voutquenne-Nazabadioko ,L., Renault,J.H.,Nuzillard,J.M., Morjani ,H., Abedinib,A., Gangloff ,S.C.,Kabouche,Z. (2018b).Two new bis-iridoids isolated from *Scabiosa stellata* and their antibacterial, antioxidant, anti-tyrosinase and cytotoxic activities .*Fitoterapia* .125 (2018) 41–48.

-M-

Ma, X.H., Zheng, C.J., Han, L.Y., Xie, B., Jia, J., Cao, Z.W., Li , Y.X. , Chen, Y.Z. (2009). Synergistic therapeutic actions of herbal ingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives. *Drug Discovery Today*. 14, (11-12) 579–588.

Mouffouk, C., Hambaba ,L., Haba.H., Mouffouk.S., Bensouici,C., mouffouk.S., Hachemi.M., Khadraoui.H (2018). Acute toxicity and in vivo anti- inflammatory effects and in vitro antioxidant and anti- arthritic potential of *Scabiosa stellata* .*Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* .18 (4), 335-348.

-N-

Nicoletti M., Toniolo C., Venditti A., Bruno M., Ben Jemia M. (2015). Antioxidant activity and chemical composition of three Tunisian Cistus: *Cistus monspeliensis*, *Cistus villosus* and *Cistus libanotis*. *Natural product research*. 29(3), 223-230.

-P-

Mena,P., Vegara,S., Martí,N., García-Viguera, C., Saura,D., Valero,M. (2013).Changes on indigenous microbiota, colour, bioactive compounds and antioxidant activity of pasteurised pomegranate juice. *Food Chemistry*.141, 2122–2129.

Pinela, J., Barros, L., Duenas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R. (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*.135, 1028-1035.

Pinela, J., Prieto, M.A., Antonio, A.L., Carvalho, A.M., Oliveira, M.B P.P., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. (2017). Ellagitannin-rich bioactive extracts of *Tuberaria lignosa* :

Insights into the 2radiation-induced effects in the recovery of high added-value compound, *Food and Function* ., Royal society of chemistry.8,175.

-R-

Rahmouni , N., Pinto, D.C. G. A., D., Beghidja ,N., Benayache ,S., Silva, A. M. S. (2018) .*Scabiosa stellata* L. Phenolic Content Clarifies Its Antioxidant Activity. *Molecules*.23 (6) 1285.

Rebaya, A., Igueld-Belghith, S., Baghdikian, B., Mahiou-Leddet, V., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J.K., Trabelsi-Ayadi, M. (2014). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*.5 (01). 052-057.

Rubio-Moraga, A., Argandoña, J., Mota, B., Pérez, J., Verdea, A., Fajardo, J., Gómez-Navarro, J., Castillo-López, R., Ahrazem, O., Gómez-Gómez, L. (2013). Screening for polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from eleven *Helianthemum* taxa (Cistaceae) used in folk medicine in south-eastern Spain. *Journal of Ethnopharmacology*.

-S-

Swain, T., Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Science in Food and Agriculture*. 10, 63-68.

-T-

Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F., Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*. 12. 484-496.

-V-

Vora, A., Londhe ,V., Pandita, N. (2015). Herbosomes enhance the in vivo antioxidant activity and bioavailability of punicalagins from standardized pomegranate extract, *Journal of functional foods*.12, 540–548.

-W-

Wang, J., Liu, K., Li, X., Bi, K., Zhang, Y., Huang, J., Zhang, R. (2017). Variation of active constituents and antioxidant activity in *Scabiosa tschiliensis* Grunning from different stages. *Journal of food science and technology*. 54(8), 2288-2295.

Wang J., Liu K., Xu D., Wang Q., Bi K., Song Y., Zhang L. (2013a). Rapid micropropagation system in vitro and antioxidant activity of *Scabiosa tschiliensis* Grunning. *Plant Growth Regulation*. 69(3), 305-310.

Wang,Y., Zhang,H., Liang,H., Yuan,Q. (2013) .Purification, antioxidant activity and protein-precipitating capacity of punicalin from pomegranate husk, *Food Chemistry*.138, 437–443.

-X-

Xu ,X., Li, F., Zhang,X., Li,R., Zhang,X., Wu,Z., Li,D. (2014). In Vitro synergistic antioxidant activity and identification of antioxidant components from *Astragalus membranaceus* and *Paeonia lactiflora*. *PLoS One*.9 (5):e96780.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Au cours de cette thèse nous avons réalisé une étude phytochimique sur deux espèces de plantes appartenant à deux familles végétales différentes ; *Scabiosa semipapposa* (Caprifoliaceae) et *Tuberaria guttata* (Cistaceae) qui a permis l'isolement par plusieurs méthodes chromatographiques de trente-trois produits dont treize correspondent à des structures nouvelles. La caractérisation de ces produits a été réalisée par une analyse spectrale basée essentiellement sur les données RMN mono et bidimensionnelles (^1H , ^{13}C , COSY, ROESY ou NOESY, TOCSY, HSQC *J*- modulé, HSQC-TOCSY et HMBC), l'analyse du spectre de masse (HR-ESI-MS), la mesure du pouvoir rotatoire ainsi que la comparaison avec les données de la littérature.

L'étude phytochimique a été portée pour la première fois sur l'espèce algérienne *Scabiosa semipapposa* et a mené à l'isolement et l'ulicidation de **12** nouvelles structures de saponines bidesmosides possédant un squelette d'acide oléanolique (**1-8**) (**Semipapposide A-H**) et hédéragenine (**9-12**) (**Semipapposide I-L**) avec une saponine bidesmoside d'acide oléanolique (**13**) (**Semipapposide M**) obtenu sous forme de mélange inséparable avec le composé (**4**), ainsi que 3 glycosides d'acide oléanolique connus (**14-16**).

En plus des saponines, plusieurs types de molécules ont été identifiés dans l'espèce *Scabiosa semipapposa*, appartenants à plusieurs familles de métabolites secondaires :

- **4 mono et bis iridoides (17-20) :**
 - ✓ Sweroside.
 - ✓ Loganine.
 - ✓ Secoxyloganine.
 - ✓ Cantleyoside et le diméthyle acétal (Triplotoside A).
- **3 lignanes (21-23) isolés pour la première fois du genre *scabiosa* :**
 - ✓ Le 8 hydroxypinoresinole.
 - ✓ (+)-8 hydroxypinorenisol -4''-*O*- β -D- glucopyranoside.
 - ✓ (+)-8 hydroxypinorenisol -4'-*O*- β -D- glucopyranoside.
- **4 phénols (24-27)**
 - ✓ Le vanillyl- β -D glucopyranoside.
 - ✓ l'alcool vanillique -4-*O*- β -D-glucopyranoside.
 - ✓ L'acide caféique méthyle ester.
 - ✓ -3,4, 5-Trimethoxyphényl 1-*O*- β -apiofuranosyl (1'' \rightarrow 6')- β -glucopyranoside.
- **4 Flavonoïdes (28-31) :** Ditolioside, Cynaroside, Lutéoline et Apigénine.

L'investigation phytochimique de *Tuberaria guttata* a abouti à trois flavonoïdes glycosylés **(28,32-33)** : Ditolioside , Tiliroside et l'isoquercitrine .

L'évaluation de la capacité antioxydante des fractions obtenues à partir des différentes parties étudiées de *Scabiosa semipapposa*, a montré une activité modérée avec des faibles corrélations avec le contenu en polyphénols et en flavonoïdes. Seule la **F 60/40 (1)** souterraine a montré une activité antioxydante intéressante dans tous les tests (DPPH ; $4.92 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$, ABTS ; $8.95 \pm 0.29 \mu\text{g/ml}$, CUPRAC ; $10.16 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$). Contrairement à la **F (20/80) 3** souterraine qui a montré la plus faible activité antioxydante avec des CI_{50} de 315.85 ± 10.68 , 124.00 ± 3.92 , $378.47 \pm 11.39 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Pour l'espèce *Tuberaria guttata*, les fractions montrent des activités antioxydantes intéressantes dans les trois tests avec des CI_{50} entre 2.14 ± 0.08 et $15.17 \pm 0.35 \mu\text{g/ml}$.

L'évaluation de l'activité antiglycosidase de ces mêmes fractions de *Tuberaria guttata* a révélé un pouvoir inhibiteur de l' α -glucosidase, meilleur que celui de la quercétine et de l'inhibiteur commercial l'acarbose, exprimant des CI_{50} qui varient entre 0.88 ± 0.01 et $4.54 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$.

En conclusion, cette étude a permis de contribuer à la connaissance chimique de ces deux espèces mais demeurent toujours partiellement exploités et il est très intéressant de poursuivre l'investigation phytochimique et biologique. Pour cela plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- ✓ Il serait très intéressant d'évaluer la cytotoxicité, l'activité antimicrobienne et le pouvoir hémolytique des nouvelles saponines isolées ainsi que pour les fractions étudiées.
- ✓ Afin aussi de compléter cette investigation, une étude phytochimique des fractions et sous fractions qui n'ont pas été purifiées devrait être réalisé.
- ✓ Au vue des résultats intéressants obtenu pour l'effet antioxydant et l'effet inhibiteur de l' α -glucosidase par les extraits de *Tuberaria guttata*, il serait intéressant de continuer la purification des extraits ainsi que la réalisation d'une étude phytochimique sur la partie souterraine.

ANNEXES

Caractéristiques des composés isolés

I- Les composés isolés à partir de de *Scabiosa semipapposa*.

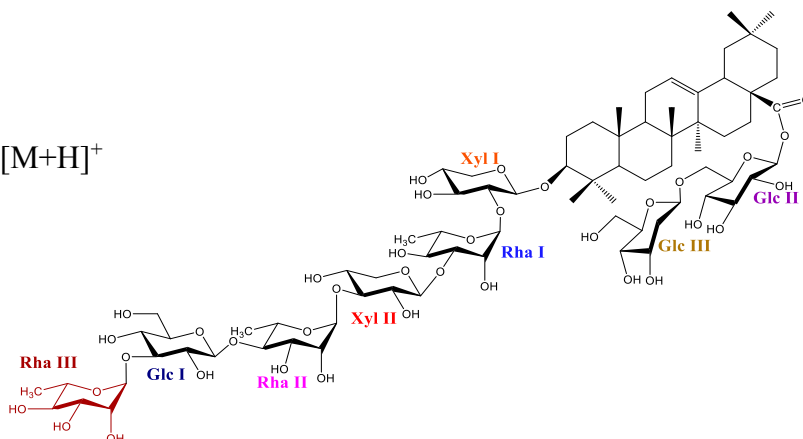
1-Composé Sp1 : Semipapposide A.

Acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₇₆H₁₂₅O₃₈

$[\alpha]_D^{20}$ - 40.7 (c 0.83, MeOH)

HR-ESI-SM : à m/z 1645.7848 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-1, page 118).

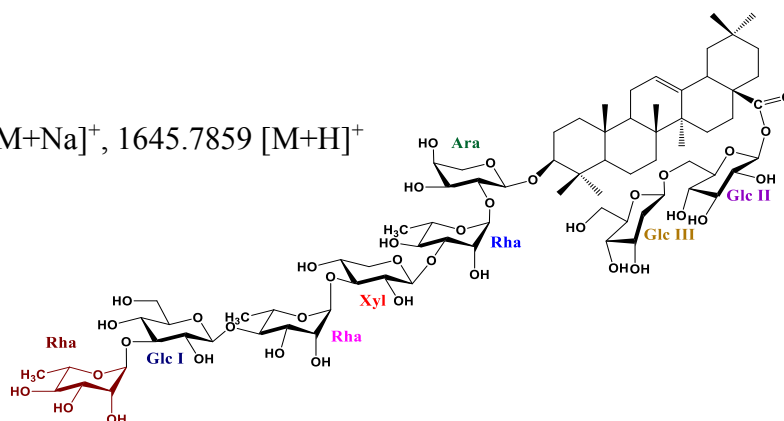
2-Composé Sp2 : Semipapposide B.

Acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₇₆H₁₂₅O₃₈

$[\alpha]_D^{20}$ -35.4 (c 0.65, MeOH)

HR-ESI-SM : à m/z 1667.7676 [M+Na]⁺, 1645.7859 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-2, page 127).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-7, page 179).

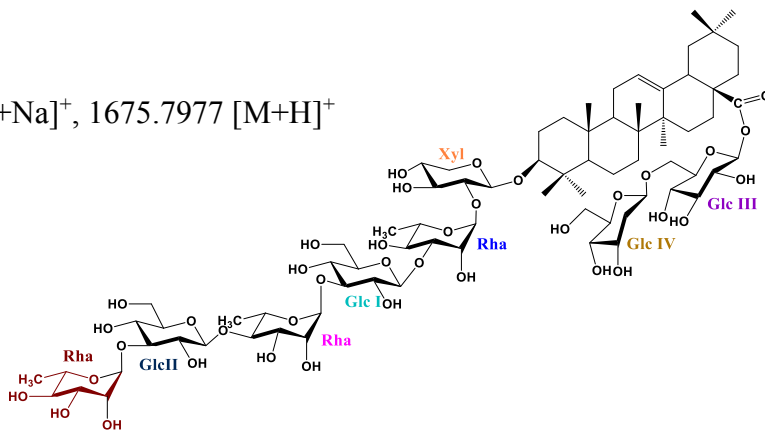
3-Composé Sp3 : Semipapposide C.

Acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₇₇H₁₂₇O₃₉

$[\alpha]^{20}_D$ -24.8 (c 0.27, MeOH)

HR-ESI-SM : à m/z 1697.7797 [M+Na]⁺, 1675.7977 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-3, page 135).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-7, page 179).

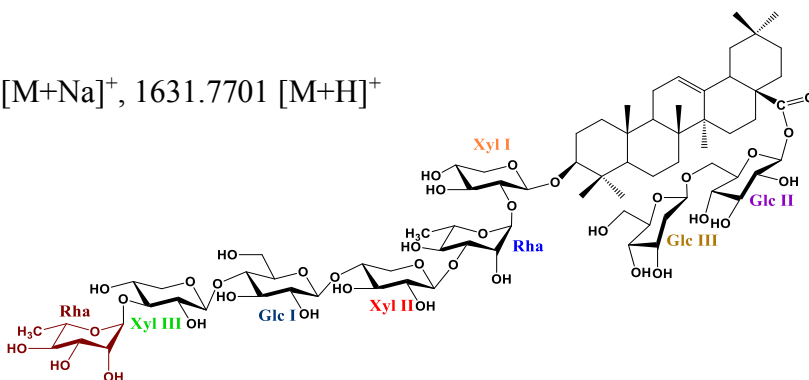
4-Composé Sp4 : Semipapposide D.

Acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₇₅H₁₂₃O₃₈

$[\alpha]^{20}_D$ -16.8 (c 0.25, MeOH)

HR-ESI-SM : à m/z 1653.7532 [M+Na]⁺, 1631.7701 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-4, page 149).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-7, page 179).

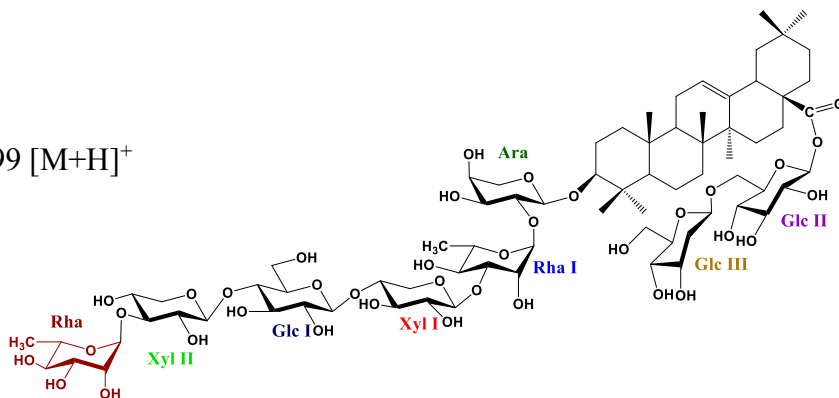
5-Composé Sp5 : Semipapposide E.

Acide 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₇₅H₁₂₃O₃₈

[α]_D²⁰ -33.3 (c 0.42, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1631.7699 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-4, page 149).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-7, page 179).

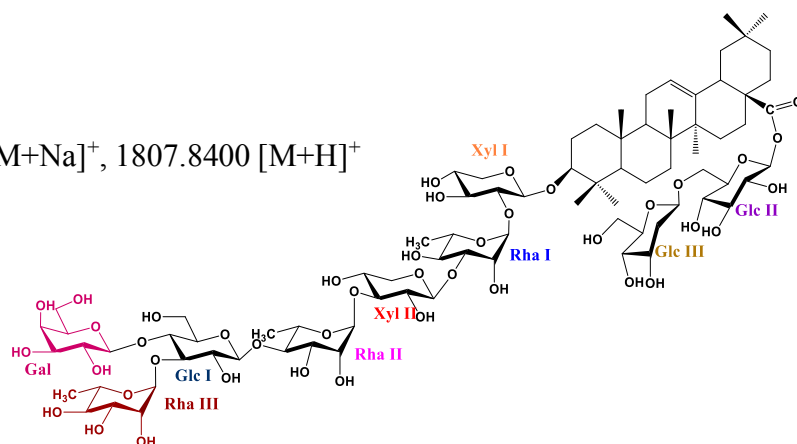
6-Composé Sp6 : Semipapposide F.

Acide 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₈₂H₁₃₅O₄₃

[α]_D²⁰ -37.1 (c 0.83, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1829.8225 [M+Na]⁺, 1807.8400 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-5, page 164).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-8, page 180).

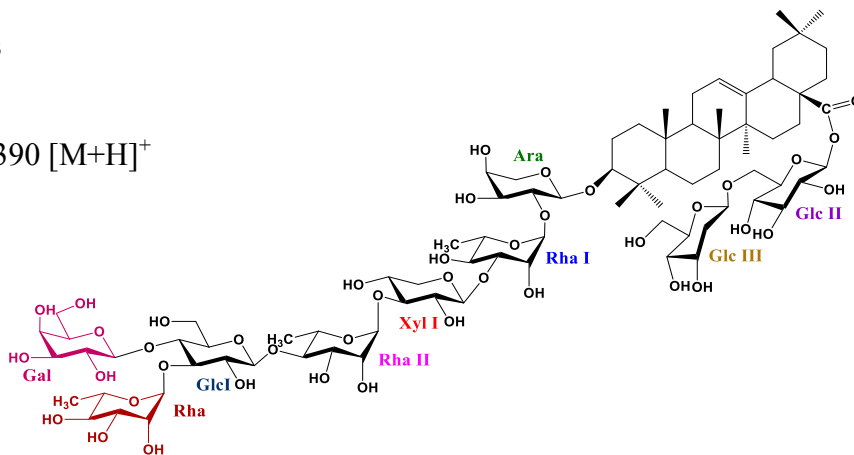
7-Composé Sp7 : Semipapposide G.

Acide 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₈₂H₁₃₅O₄₃

[α]_D²⁰ -19.7 (c 0.37, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1807.8390 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-5, page 164).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-8, page 180).

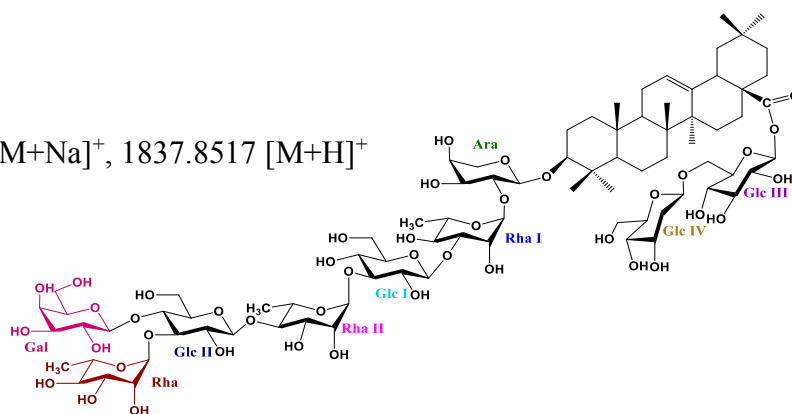
8-Composé Sp8 : Semipapposide H.

Acide 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₈₃H₁₃₇O₄₄

[α]_D²⁰ -27.2 (c 1.14, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1859.8307 [M+Na]⁺, 1837.8517 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-6, page 178).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-8, page 180).

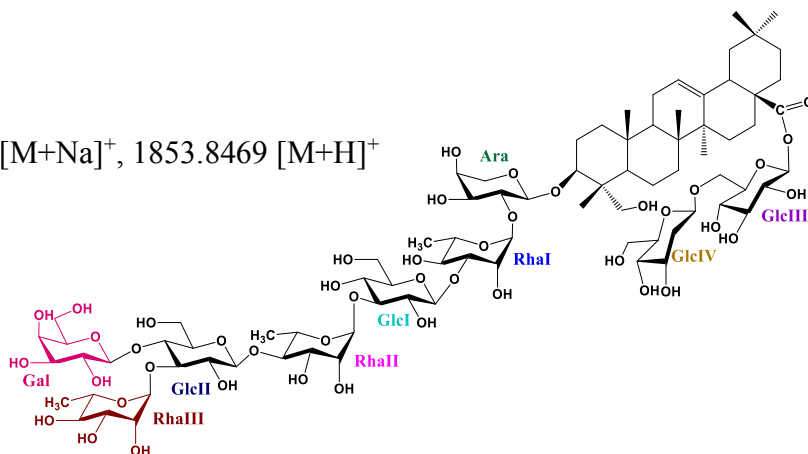
9-Composé Sp9 : Semipapposide I.

3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine.

Formule brute : C₈₃H₁₃₇O₄₅

[α]_D²⁰ -17.8 (c 0.23, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1875.8267 [M+Na]⁺, 1853.8469 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-9, page 187).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-11, page 193).

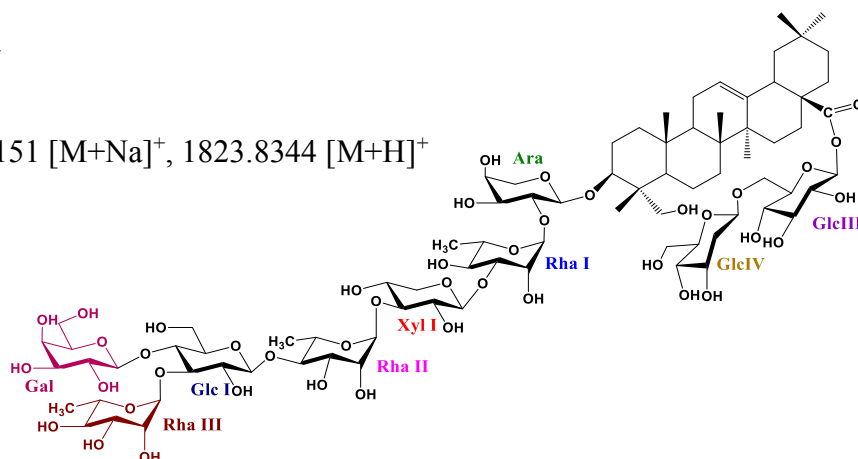
10-Composé Sp10 : Semipapposide J.

3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine.

Formule brute : C₈₂H₁₃₅O₄₄

[α]_D²⁰ -28.2 (c 0.66, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1845.8151 [M+Na]⁺, 1823.8344 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-10, page 192).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-11, page 193).

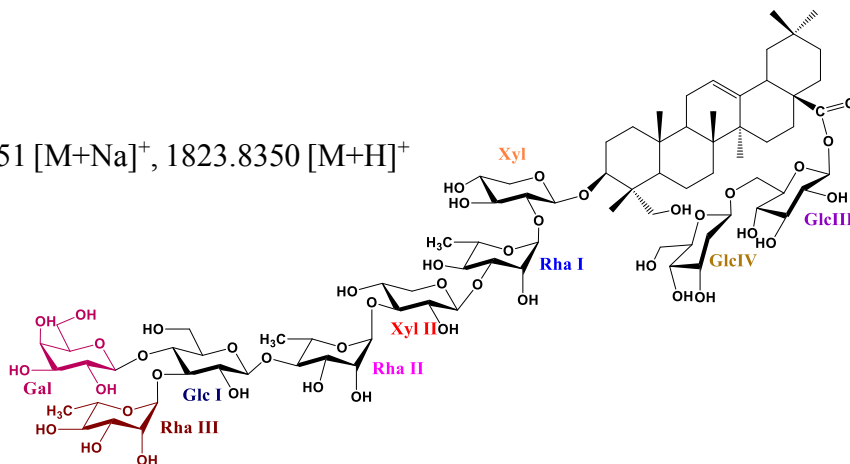
11-Composé Sp11 : Semipapposide K.

3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine.

Formule brute : C₈₂H₁₃₅O₄₄

[α]_D²⁰ -28.6 (c 0.79, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1845.8151 [M+Na]⁺, 1823.8350 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-10, page 192).

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-11, page 193).

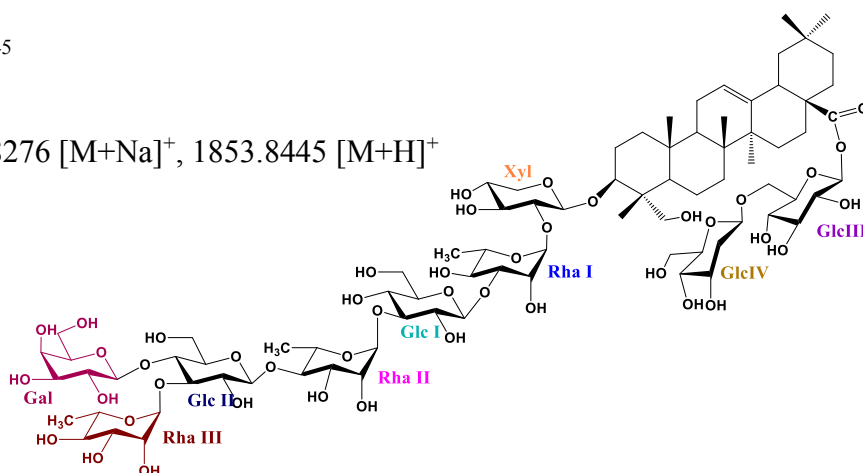
12-Composé Sp12 : Semipapposide L.

3-*O*-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-xylopyranosyl]-28-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-hédéragenine.

Formule brute : C₈₃H₁₃₇O₄₅

[α]_D²⁰ -22.8(c 0.21, MeOH)

HR-ESI-SM : à *m/z* 1875.8276 [M+Na]⁺, 1853.8445 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (Tableau III-9, page 187).

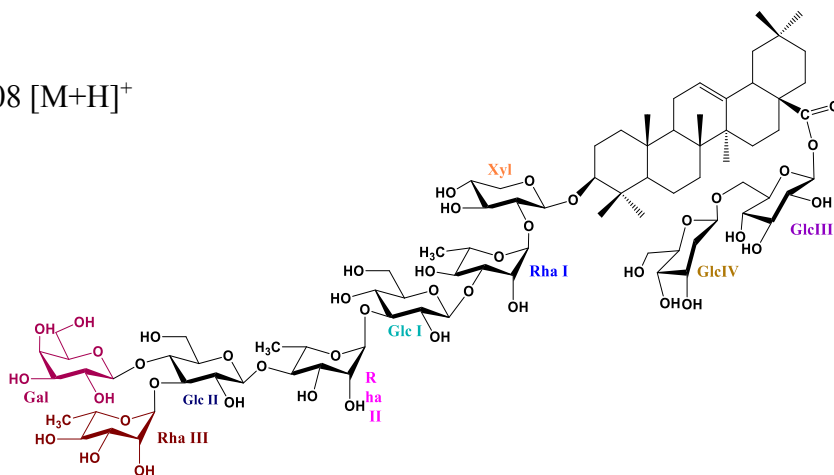
RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (Tableau III-11, page 193).

13-Composé Sp13 : Semipapposide M.

Acide 3-O-[β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₈₃H₁₃₇O₄₄

HR-ESI-SM : à m/z 1837.8508 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-6, page 178).

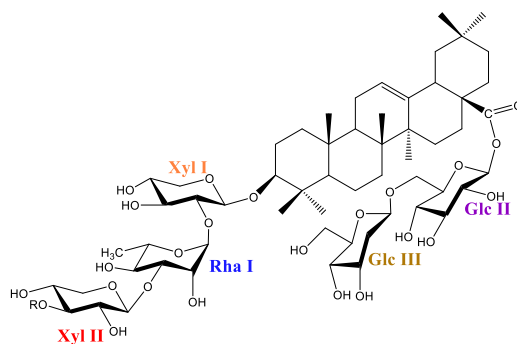
RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-8, page 180).

14-Composé Sp14 : Scabiosaponine E.

Acide 3-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₅₈H₉₄O₂₅

HR-ESI-SM : à m/z 1191.6178 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-13, page 196).

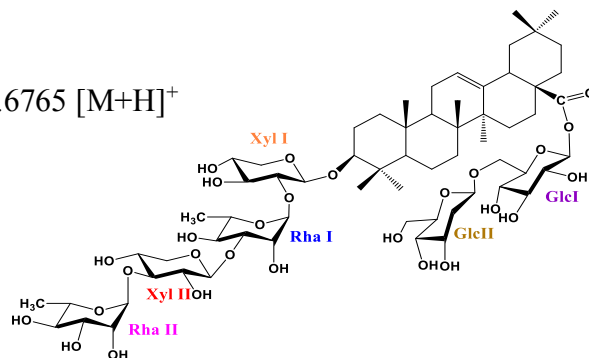
RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-12, page 195).

15-Composé Sp15 : Scabiostellatoside B.

Acide 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique.

Formule brute : C₆₄H₁₀₄O₂₉

HR-ESI-SM : à m/z 1359.6586 [M+Na]⁺, 1337.6765 [M+H]⁺



RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-13, page 196).

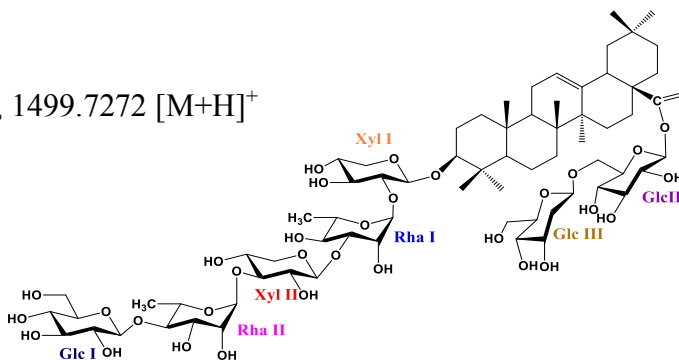
RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-12, page 195).

16-Composé Sp16.

Acide 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-oléanolique. **Scabiostellatoside D.**

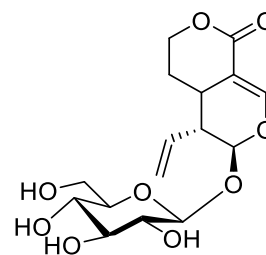
Formule brute : C₇₀H₁₁₄O₃₄

HR-ESI-SM : à m/z 1521.7100 [M+Na]⁺, 1499.7272 [M+H]⁺

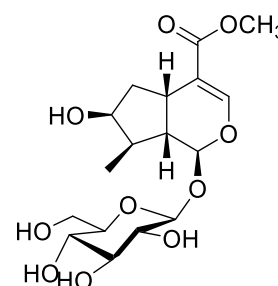


RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie osidique (CD₃OD). (Tableau III-13, page 196).

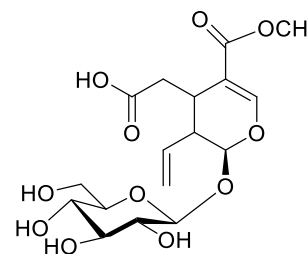
RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) de la partie génine (CD₃OD). (Tableau III-12, page 195).

17-Composé Sp17 : Sweroside

RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-14, page 203).

18 -Composé Sp18 : Loganine.

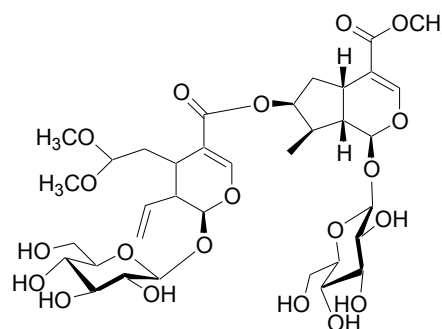
RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-15, page 211).

19-Composé Sp19 : Secoxyloganine.

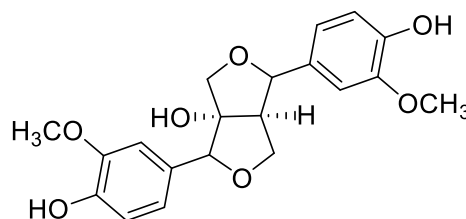
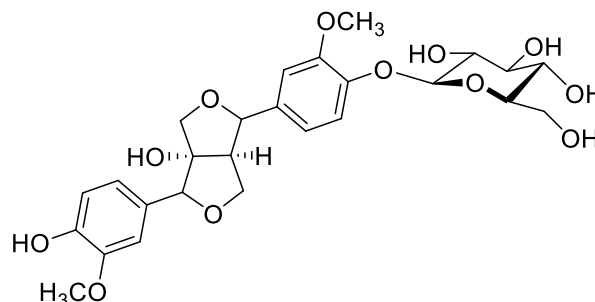
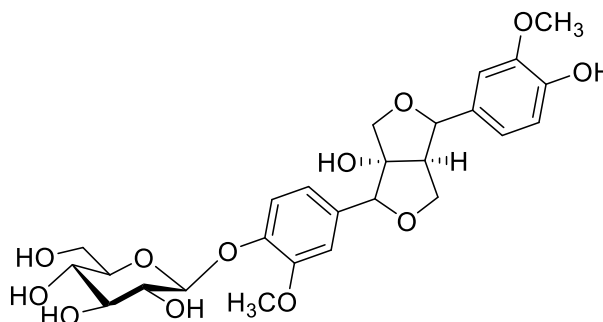
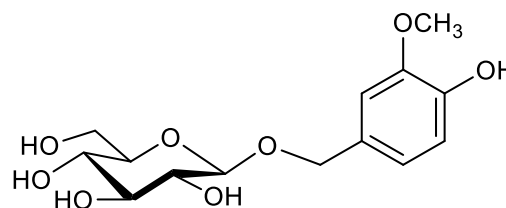
RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-15, page 211).

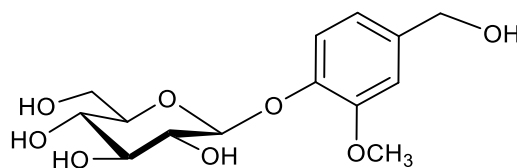
20-Composé Sp20 : Triplotoside

Cantleyoside dimethylacetal

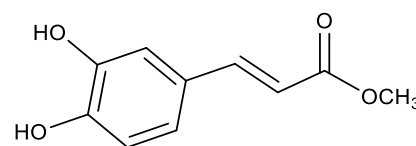


RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-16, page 216).

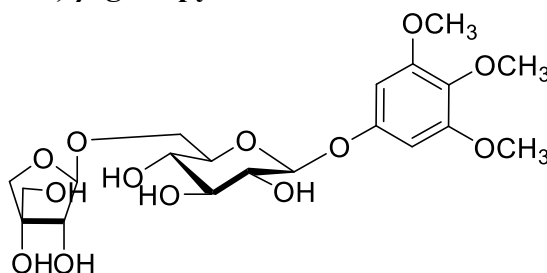
21-Composé Sp21 : 8-hydroxypinoresinolFormule brute : $C_{20}H_{22}O_7$ HR-ESI-SM : à m/z 397.1265 $[M+Na]^+$ RMN 1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-17, page 234).**22-Composé Sp22 : (+)-8 hydroxypinoresinol -4'-O - β -D- glucopyranoside**Formule brute : $C_{26}H_{32}O_{12}$ HR-ESI-SM : à m/z 559,1790 $[M+Na]^+$ RMN 1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-17, page 234).**23-Composé Sp23 : (+)-8 hydroxypinoresinol -4-O - β -D- glucopyranoside**Formule brute : $C_{26}H_{32}O_{12}$ HR-ESI-SM : à m/z 559,1790 $[M+Na]^+$ RMN 1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-17, page 234).**24-Composé Sp24 : vanillyl- β -D glucopyranoside**RMN 1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-18, page 241).

25-Composé Sp25: l'alcool vanillique 4-O-β-D glucopyranoside

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-18, page 241).

26-Composé Sp26 : Acide caféique méthyle ester

RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-19, page 244).

27-Composé Sp27 :**3,4, 5-Trimethoxyphényl 1-O-β-apiofuranosyl (1''→6')-β-glucopyranoside**

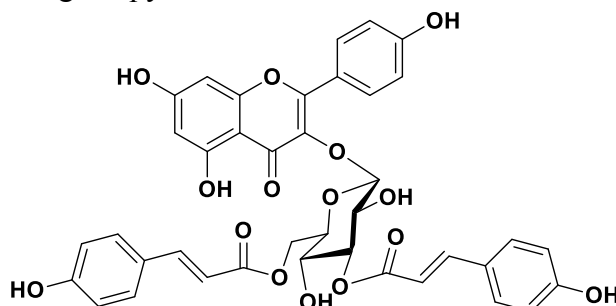
RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-20, page 249).

28-Composé Sp28 : Ditolioside

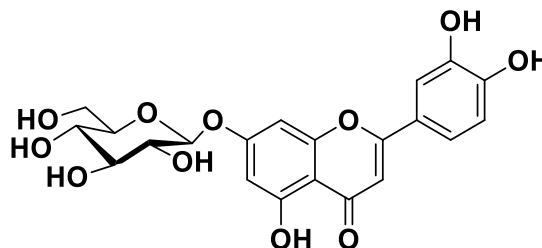
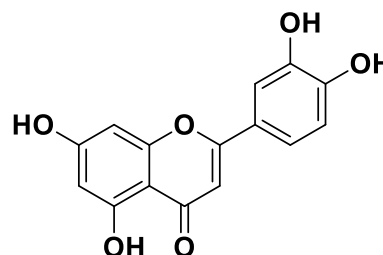
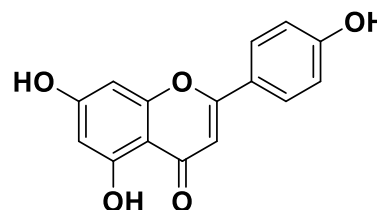
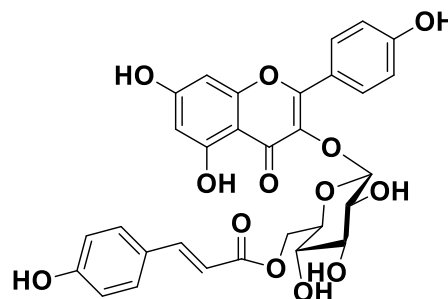
Kaempférol 3-O-(3'',6''-di-O-E-p-coumaroyl)- β-D-glucopyranoside.

Formule brute : C₃₉H₃₂O₁₅

HR-ESI-SM : à *m/z* 741,1823 [M+H]⁺

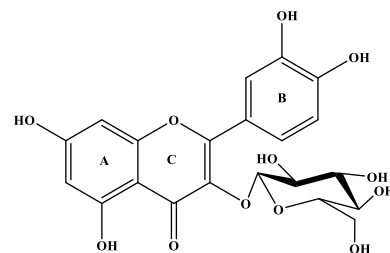


RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-21, page 256).

29-Composé Sp29 : Cynaroside.Luteoline 7-*O*- β -D-glucopyranosideRMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (DMSO-d₆). (Tableau III-22, page 260).**30-Composé Sp30 : Luteoline**RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-22, page 260).**31-Composé Sp31 : Apigénine**RMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-23, page 262).**II-Les composés isolés à partir de de *Tuberaria guttata*.****32-Composé Tb2 : Tiliroside**kaempferol-3-*O*-[6''-*O*-(*E*)-*p*-coumaroyl]- β -D-glucopyranosideRMN ¹H (600 MHz) et RMN ¹³C (150 MHz) (CD₃OD). (Tableau III-24, page 267).

33-Composé Tb3 : Isoquercétrine

Quercétine-3-*O*- β -D-glucopyranoside



RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) (CD_3OD). (Tableau III-25, page 269).

Tableau III-26 : Teneurs en phénols et en flavonoïdes des extraits de *Scabiosa semipapposa*.

Fractions	Teneurs en phénols totaux de <i>Scabiosa semipapposa</i>		Teneur en flavonoïdes totaux de <i>Scabiosa semipapposa</i>	
	P.aériennes	Racines	P.aériennes	Racines
Extrait Brut	169,65±2,26	109,04±2,54	19,47±0,00	12,76±1,66
60/40 (1)	190,78±0,96	361,70±11,16	20,91±1,77	74,56±1,43
60/40 (3)	243,94±0,80	266,80±5,58	44,18±1,61	37,38±4,13
40/60 (1)	175,63±4,60	177,09±0,13	85,11±1,83	18,21±0,98
40/60 (2)	146,74±0,77	150,77±1,46	57,21±1,36	10,49±0,53
20/80 (1)	201,23±2,26	158,88±1,59	51,94±2,77	42,99±3,65
20/80 (3)	183,87±2,92	32,26±0,31	62,18±2,72	5,74±0,45

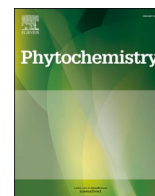
P : Parties**Tableau III-27** : Résultats du pouvoir antioxydant des extraits de *Scabiosa semipapposa*

Fractions	DPPH (PA)	DPPH (R)	ABTS (PA)	ABTS (R)	CUPRAC (PA)	CUPRAC (R)
Extrait Brut	80.04±0.54	79.97±0.59	31.12 ±0.74	49.55 ±1.19	92.18 ± 1.75	122.25±1.01
60/40 (1)	45.08 ± 0.81	4.92 ±0,11	27.26 ±0.74	8.95±0.29	32.93 ± 1.06	10.16±0.11
60/40 (3)	46.01 ± 1.82	34.27±0.65	18.76 ±0.57	12.71±0.37	35.50 ±0.50	29.12±0.38
40/60 (1)	38.69 ± 0.88	51.41±0.66	19.21 ±1.01	16.40±0.17	30.65 ± 1.48	41.99±0.42
40/60 (2)	42.15 ± 0.16	64.57±3.10	23.53±1.34	23.29±0.86	37.11±0.76	54.84±2.81
20/80 (1)	52.03 ±0.27	62.07±0.81	39.95± 1.48	36.18±2.58	50.13±1.47	44.14±1.86
20/80 (3)	46.88 ± 0.62	315.85±10.68	40.71±0.94	124.00±3.92	40.92±0.22	378.47±11.39
BHT	15.92±0.10		2.69±0.25		5.40±0.33	
BHA	8.73±0.06		1.80±0.08		3.09±0.08	

PA : Parties aériennes**R** : Racines

Tableau III-28 : Teneurs en polyphénols (TPC) et flavonoïdes (TFC) et résultats des activités antioxydantes de *T.guttata*.

Fraction	TPC	TFC	DPPH	ABTS	CUPRAC	Anti glucosidase
Extrait Brut	366,39 ± 22,33	39,93 ± 2,68	9.64±0,45	5,00±0,03	5,78±0,28	2.74±0.04
60/40 2	657,82 ± 0,92	119,54± 0,15	4,07±0,23	1,72±0,06	7,51±0,11	0.88±0.01
60/40 3	685,64 ± 7,89	177,59± 0,60	3,73±0,15	2.67±0,05	5.91±0,04	1.04±0.04
40/60 2	522,07± 1,69	269,34 ±2,26	5.94±0,21	2,14±0,08	1.64±0,04	1.49 ± 0.03
40/60 3	441,44 ± 8,75	167,61 ±1,70	7.19±0,03	4.31±0,18	12.71±0,09	4.26 ± 0.02
20/80 1	479,46 ± 0,27	151,49± 4,91	5,81±0,16	2,26±0,07	4,14±0,08	4.54± 0.10
20/80 3	358,11± 6,51	128,82 ±5,89	11.07±0.38	7.42±0,11	15.17±0.35	4.26±0.17
Quercétine						5.98 ±0.00
Acarbose						397.2 ± 3.32
BHT			7,76±0,26	2,27±0,10	5,74±0,27	
BHA			4.04±0,07	0,90±0,01	4,23±0,10	



Semipapposides A-M, triterpenoid bidesmosides saponins from the roots of *Scabiosa semipapposa*

Samia Bendamene^{a,b,c}, Naima Boutaghane^a, Yuva Bellik^b, Charlotte Sayagh^c, Abdulmagid Alabdul Magid^c, Dominique Harakat^c, Zahia Kabouche^a, Laurence Voutquenne-Nazabadioko^{c,*}

^a Université des frères Mentouri-Constantine 1, Département de chimie, Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST), Campus Chaabet-Ersas, 25000, Constantine, Algeria

^b Université Mohammad El Bachir El Ibrahimy - Bordj Bou Arreridj, Département des Sciences biologiques Laboratoire de Caractérisation et Valorisation des Ressources Naturelles (LCVRN), 34000, Bordj Bou Arreridj, Algeria

^c Université de Reims Champagne Ardenne, CNRS, ICMR UMR 7312, 51097, Reims, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Scabiosa semipapposa Salzem ex D.C.
Caprifoliaceae
Triterpenoid saponins
Semipapposides A-M

ABSTRACT

Phytochemical investigations of the roots of *Scabiosa semipapposa* Salzem ex D.C. have led to the isolation of 12 undescribed triterpenoid saponins named semipapposides A-L, one undescribed saponin semipapposide M obtained as an inseparable mixture, together with three known oleanolic acid glycosides. Their structures were elucidated by analysis of 1D and 2D-NMR (¹H-¹H COSY, TOCSY, HSQC-TOCSY, HSQC, ROESY or NOESY, and HMBC) spectroscopic data and mass spectrometry (HR-ESI-MS), and by comparison with those of related metabolites. All saponins possess a partial sequence rhamnopyranosyl-(1 → 2)-xylopyranosyl or rhamnopyranosyl-(1 → 2)-arabinopyranosyl- at C-3 of the aglycon and a gentiobiose unit at C-28. These results represent a contribution to the knowledge of the saponins of *Scabiosa* species and their chemotaxonomy.

1. Introduction

The genus *Scabiosa*, belonging to the Caprifoliaceae family, is formed by around 100 species (Carlson et al., 2012) which grow as annual or perennial herbs, distributed in Europe and the Mediterranean Basin, southern Africa and eastern Asia (Reveal and Chase, 2011). It is well represented in Algeria by twelve species (Quezel and Santa, 1963). Several *Scabiosa* species have been used in traditional medicine to treat measles and furuncles (Bonet et al., 1999), diphtheria (Rigat et al., 2007), respiratory infections including bronchitis, bronchial pneumonia, influenza and asthma, as well as high blood pressure, uterine disorders (Rigat et al., 2007; Kose et al., 2015; Moteetee et al., 2016), heel cracks (Bammi and Douira, 2002), dermatoses (herpes ringworm, scabies), ulcers (Girre, 1980) and liver diseases (Zhang et al., 2015). Many *Scabiosa* species are characterized by an extremely rich chemical diversity (Pinto et al., 2018), in particular, pentacyclic triterpene saponins (Alimbaeva et al., 1977; Baykal et al., 1998; Zheng et al., 2004; Lehbili et al., 2018a; Kılınc et al., 2020) in addition to the flavonoids, coumarins (Garaev et al., 2008; Al-Qudah et al., 2017; Lehbili et al.,

2018b), iridoid glycosides (Papalexandrou et al., 2003; Polat et al., 2010; Lehbili et al., 2018b) and lignan glycosides (Pasi et al., 2002).

In a continuation of our phytochemical investigations of *Scabiosa* species growing in Algeria (Lehbili et al., 2018a, 2018b), we are interested to *S. semipapposa* Salzem ex D.C. (*S. semipapposa* f. *albiflora* Faure & Maire is the synonyme), an herbaceous, hairy annual plant, rather caespitose, with a lilac flowers and branched stems. The lower leaves are oval coarsely toothed. The petiole superior ones are pinnatifid with oblong linear sub dentate lobes (Don, 1834; Quezel and Santa, 1963). As far as we know, no previous research work has investigated the chemical profile of *S. semipapposa* roots. In this study, the phytochemical composition of *S. semipapposa* roots has been explored and resulted in the isolation of 12 undescribed triterpene saponins, namely, semipapposides A-L (1–12), one undescribed saponin semipapposide M (13) obtained as an inseparable mixture with compound 4 (Fig. 1), together with three known triterpene saponins (14–16).

* Corresponding author.

E-mail address: laurence.nazabadioko@univ-reims.fr (L. Voutquenne-Nazabadioko).

2. Results and discussion

The 80% methanol extract of the roots of *S. semipapposa* was fractionated by vacuum-liquid chromatography (VLC) on RP-C₁₈ and purified by successive chromatographic techniques, including flash chromatography as well as semi-preparative and preparative high performance liquid chromatography (HPLC) yielding 16 compounds including 13 undescribed compounds (1–13) (Fig. 1) and three known ones. Their structures were mainly elucidated by the use of 1D and 2D NMR techniques (¹H, *J*-modulated ¹³C, DEPT, ¹H–¹H-COSY, TOCSY, *J*-modulated HSQC, HSQC-TOCSY, HMBC, ROESY, and NOESY) in combination with HR-ESI-MS and by comparison of their physical and spectral data with literature values. The known compounds were identified by comparison of their spectral data with literature values as scabiosaponine E (14) previously isolated from *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004), scabiostellatoside B (15) and D (16) previously isolated from *S. stellata* (Lehbili et al., 2018a).

Compounds 1–16 were isolated as white amorphous powders. The monosaccharides obtained by acid hydrolysis of an aliquot of the saponin containing fraction were identified as L-arabinose (Ara), L-rhamnose (Rha), D-glucose (Glc), D-xylose (Xyl), and D-galactose (Gal) by comparison on TLC with authentic samples followed by measurement of the optical rotation values of each purified sugar (see Experimental Section).

Compound 1 exhibited, in the positive ion-mode HR-ESI-MS, a quasi-molecular ion peak at *m/z* 1645.7848 [M+H]⁺ (calcd for 1645.7849) compatible with the molecular formula C₇₆H₁₂₄O₃₈.

The ¹H and ¹³C NMR spectra displayed resonances due to the triterpene part characteristic of oleanolic acid aglycone (Boutaghane et al., 2013; Mahato and Kundu, 1994) (Table 1) with seven angular methyl groups at δ_H 1.07, 0.88, 0.97, 0.82, 1.17, 0.93 and 0.96 (s, each) showing correlations in the HSQC spectrum with their corresponding carbon at δ_C 27.1 (C-23), 15.9 (C-24), 14.8 (C-25), 16.4 (C-26), 24.9 (C-27), 32.1 (C-29) and 22.7 (C-30). Furthermore, other characteristic signals were observed such as one olefinic proton at δ_H 5.27 (1H, t, *J* = 3.7 Hz, H-12) and one oxygen-bearing methine proton at δ_H 3.14 (dd, *J* = 11.8, 4.3 Hz, H-3) showing HSQC correlation with δ_C 122.4 (C-12) and 88.8 (C-3), respectively. The ROESY correlations between H-3/H-5 (δ_H 0.80, d, *J* = 12.3 Hz) and H-5/H-9 (δ_H 1.59, m) indicated their α-axial orientation and thus the β-orientation of the oxygen at C-3. Extensive 2D NMR analysis confirmed the structure of the aglycone to be oleanolic acid. The chemical shift values at δ_C 88.8 (C-3) and 176.7 (C-28), suggested that the saponin was a bisdesmosidic glycoside with saccharide units attached to these positions.

The presence of eight sugar moieties in 1 was evidenced by the ¹H NMR spectrum which displayed eight anomeric protons at δ_H 5.38 (d, *J* = 1.5 Hz), 5.37 (d, *J* = 8.3 Hz), 5.21 (d, *J* = 1.1 Hz), 5.16 (d, *J* = 1.7 Hz), 4.62 (d, *J* = 7.9 Hz), 4.47 (d, *J* = 7.7 Hz), 4.39 (d, *J* = 7.2 Hz), and 4.36 (d,

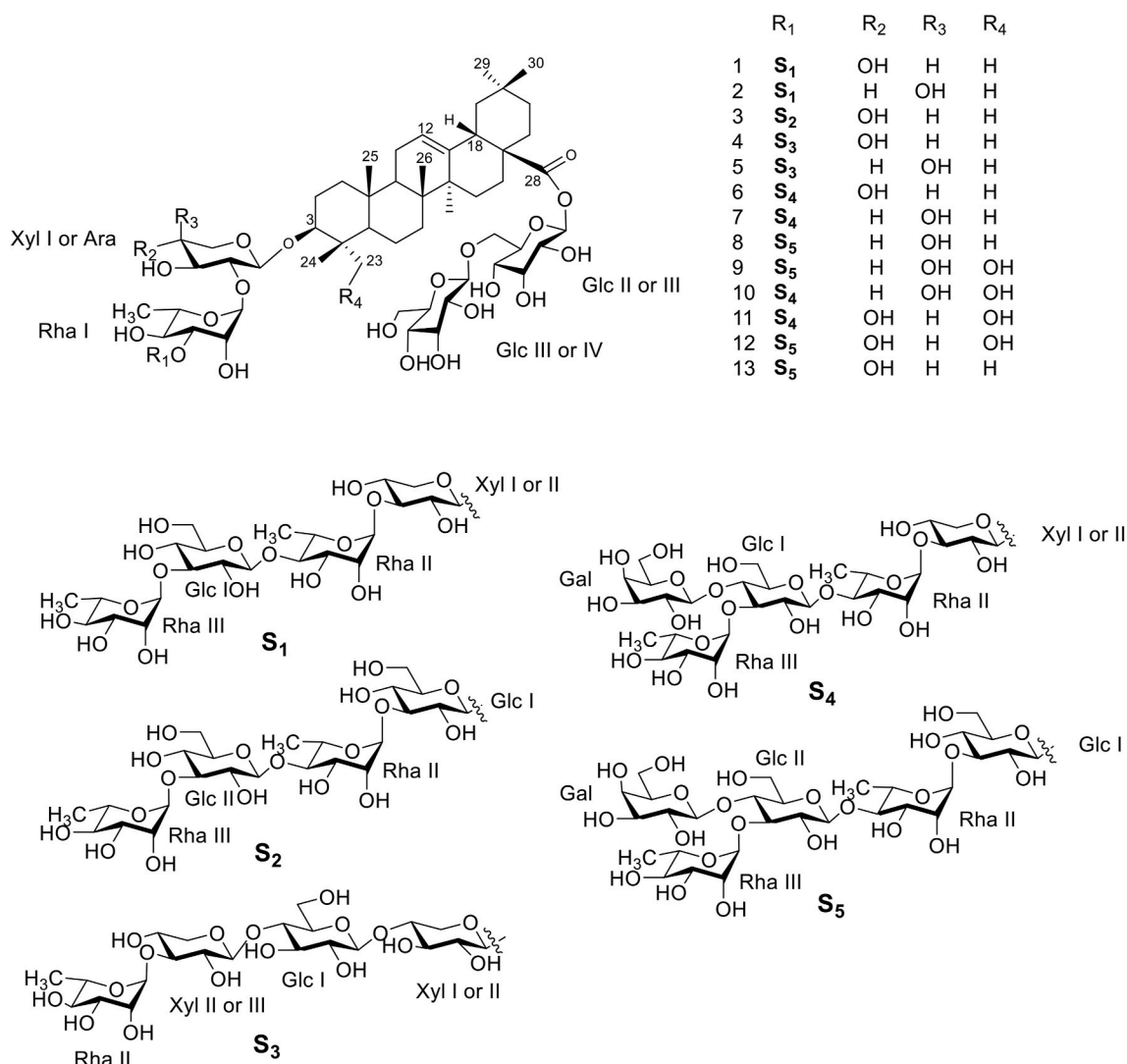


Fig. 1. The structures of compounds 1–13 isolated from *Scabiosa semipapposa*.

Table 1
 ^{13}C NMR and ^1H NMR spectroscopic data of oleanolic acid of compounds 1–5 in CD_3OD .^{a,b}

Position	1		2		3		4		5	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	38.7	1.00, td (13.5, 3.1)1.63	38.6	1.00, td (13.6, 3.3)1.64, m	38.6	1.00, td (13.5, 4.4) 1.62	38.6	1.00, td (13.7, 3.9) 1.63, m	38.5	1.00, m1.64, m
2	25.9	1.70, m1.82	25.7	1.731.86, m	25.9	1.70, m1.82, m	25.9	1.70, m1.82	25.7	1.731.86, td (13.3, 3.4)
3	88.8	3.14, dd (11.8, 4.3)	89.2	3.14, dd (11.8, 4.5)	88.9	3.14, dd (11.5, 4.2)	88.9	3.14, dd (11.7, 4.3)	89.2	3.13, dd (11.7, 4.3)
4	38.9	–	38.9	–	38.9	–	38.9	–	38.9	–
5	55.9	0.80, d (12.3)	55.7	0.80, d (12.3)	55.8	0.80, d (11.9)	55.9	0.80, d (12.0)	55.7	0.80, m
6	18.0	1.421.55, m	18	1.431.56, m	18.0	1.42, td (13.2,3.2) 1.56, m	18.0	1.431.56, m	18.0	1.431.55, m
7	32.5	1.331.51, td (13.7, 4.3)	32.5	1.341.51, td (12.2, 3.3)	32.5	1.331.50, td (13.0, 3.5)	32.5	1.34, m1.50, td (12.4, 3.5)	32.5	1.34, m1.50, td (12.2, 3.5)
8	39.3	–	39.3	–	39.3	–	39.3	–	39.3	–
9	47.8	1.59, m	47.6	1.60, m	47.9	1.60, m	47.6	1.60, m	47.7	1.60, m
10	36.5	–	36.5	–	36.5	–	36.5	–	36.5	–
11	23.2	1.91, m	23.1	1.91, m	23.1	1.90, m	23.1	1.90, m	23.1	1.91, m
12	122.4	5.27, t (3.7)	122.4	5.27, t (3.7)	122.4	5.27, t (3.6)	122.4	5.27, t (3.6)	122.4	5.27, t (3.4)
13	143.5	–	143.5	–	143.5	–	143.5	–	143.5	–
14	41.5	–	41.5	–	41.5	–	41.5	–	41.5	–
15	27.5	1.10, dm (13.7) 1.80, m	27.5	1.10, dm (13.7)1.80, td (13.7,3.0)	27.5	1.10, dm (13.9) 1.80, m	27.5	1.10, dm (13.6)1.80 1.80, m	27.5	1.10, dm (13.9) 1.80, m
16	22.6	1.732.07, td (13.2, 3.6)	22.6	1.732.07, td (13.3, 3.7)	22.6	1.732.07, td (13.6, 3.6)	22.4	1.732.07, td (13.2, 3.4)	22.6	1.732.07, td (13.2, 3.3)
17	46.6	–	46.6	–	46.6	–	46.6	–	45.8	–
18	41.1	2.88, dd (13.7, 4.2)	41.1	2.88, dd (13.7, 4.0)	41.1	2.88, dd (13.6, 4.1)	41.1	2.88, dd (13.5, 4.0)	41.1	2.88, dd (13.4, 4.1)
19	45.8	1.171.73, t (13.7)	45.9	1.161.73, t (13.7)	45.3	1.161.73, t (13.6)	45.8	1.161.73, t (13.5)	46.6	1.161.73, t (13.4)
20	30.2	–	30.2	–	30.1	–	30.1	–	30.1	–
21	33.5	1.241.42, td (13.2, 2.8)	33.5	1.241.42, td (13.0, 2.6)	33.5	1.241.42, td (13.6, 4.1)	33.5	1.241.42, m	33.5	1.241.42, td (13.2, 3.5)
22	31.8	1.621.73	31.8	1.62, m1.74	31.8	1.621.74	31.7	1.621.74	31.8	1.62, m1.74
23	27.1	1.07, s	27.3	1.05, s	27.1	1.07, s	27.1	1.07, s	27.2	1.05, s
24	15.9	0.88, s	15.8	0.88, s	15.8	0.87, s	15.85	0.88, s	15.8	0.87, s
25	14.8	0.97, s	14.7	0.98, s	14.8	0.96, s	14.8	0.97, s	14.8	0.98, s
26	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s
27	24.9	1.17, s	24.9	1.18, s	24.9	1.17, s	24.9	1.17, s	24.9	1.17, s
28	176.7	–	176.7	–	176.7	–	176.7	–	176.7	–
29	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s
30	22.7	0.96, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.

^b Overlapped signals are reported without designated multiplicity.

J = 7.6 Hz) (Table 3) giving correlations with eight anomeric carbons at δ_{C} 99.9, 94.3, 100.7, 101.3, 104.1, 105.0, 105.0, and 103.2, respectively in the HSQC spectrum. Complete assignments of each sugar were achieved by extensive 1D and 2D-NMR analyses (^1H - ^1H -COSY, TOCSY, HSQC, HSQC-TOCSY, and ROESY) and by optical rotation (see experimental), allowing the characterization of two β -D-xylopyranosyl (Xyl I, $\delta_{\text{H-1}}$ 4.39 and Xyl II, $\delta_{\text{H-1}}$ 4.47), three α -L-rhamnopyranosyl (Rha I $\delta_{\text{H-1}}$ 5.38; Rha II, $\delta_{\text{H-1}}$ 5.21; and Rha III $\delta_{\text{H-1}}$ 5.16), and three β -D-glucopyranosyl (Glc I, $\delta_{\text{H-1}}$ 5.37; Glc II, $\delta_{\text{H-1}}$ 4.62; and Glc III $\delta_{\text{H-1}}$ 4.36) (Table 3). The large coupling constant (>7 Hz) for xylose and glucose coupled with the ROE effect between H-1/H-3/H-5 axial, indicated their β -configuration. The small *J*-value of the anomeric proton of rhamnose and the chemical shift of Rha-C-5 at δ_{C} 67–68 indicated their α -configuration (Kasai et al., 1979). The deshielding signals of Xyl I–C-2 (δ_{C} 76.7), Rha I–C-3 (δ_{C} 80.7), Xyl I–C-3 (δ_{C} 81.7), Rha II–C-4 (δ_{C} 82.3), Glc I–C-3 (δ_{C} 83.3), and Glc II–C-6 (δ_{C} 68.0), suggested that Xyl I, Xyl II, Rha I, Rha II, Glc I and Glc II were substituted. The linkages between these sugars were established using mainly HMBC and ROESY spectra. The HMBC correlation between Xyl I–H-1 (δ_{H} 4.39) and C-3 (δ_{C} 88.8) of the aglycone and the ROESY correlation between Xyl I–H-1 (δ_{H} 4.39) and H-3 (δ_{H} 3.14) of the aglycone indicated the glycosidic linkage of the Xyl I at the C-3 position of the aglycone (Fig. 2). Moreover, the HMBC spectrum of compound 1 displayed long-range correlations between Rha I–H-1 (δ_{H} 5.38)/Xyl I–C-2 (δ_{C} 76.7), Xyl II–H-1 (δ_{H} 4.47)/Rha I–C-3 (δ_{C} 80.7), Rha II–H-1 (δ_{H} 5.21)/Xyl II–C-3 (δ_{C} 81.7), Glc I–H-1 (δ_{H} 4.62)/Rha II–C-4 (δ_{C}

82.3), and Rha III–H-1 (δ_{H} 5.16)/Glc I–C-3 (δ_{C} 83.3) indicating that the saccharidic chain α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranoside was linked to C-3 of the aglycone. In a similar fashion the cross peak observed in the HMBC spectrum between Glc III–H-1 (δ_{H} 4.36)/Glc II–C-6 (δ_{C} 68.0) and Glc II–H-1 (δ_{H} 5.37)/aglycone-C-28 (δ_{C} 176.7) established that the disaccharide gentiobiosyl [Glc III-(1 \rightarrow 6)-Glc II] was linked to the C-28 of the aglycone. The shielded value of the anomeric carbon of Glc II–C-1 (δ_{C} 94.3) confirmed that this sugar was linked through an ester function to C-28. The linkages were ensured by the ROESY cross-peaks at: Rha III H-1 (δ_{H} 5.16)/Glc I–H-3 (δ_{H} 3.53), Glc I–H-1 (δ_{H} 4.62)/Rha II–H-4 (δ_{H} 3.63), Rha II–H-1 (δ_{H} 5.21)/Xyl II–H-3 (δ_{H} 3.49), Xyl II–H-1 (δ_{H} 4.47)/Rha I–H-3 (δ_{H} 3.90), Rha I–H-1 (δ_{H} 5.38)/Xyl I–H-2 (δ_{H} 3.41), Xyl I–H-1 (δ_{H} 4.39)/aglycone-H-3 (δ_{H} 3.14) and Glc III–H-1 (δ_{H} 4.36)/Glc II–H-2-6 (δ_{H} 3.78, 4.14). Compared to scabiostellatolide D (16), the sugar part at C-3 in 1 is composed of a supplementary rhamnopyranosyl unit (Lehbili et al., 2018a), and the signals due to gentiobiosyl at C-28 were superimposable. According to the above-described results, the structure of compound 1 was elucidated as 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1), named semipapposide A.

The partial sequence –Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl- at the C-3 position of the

Table 2¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data of oleanolic acid of compounds **6–8** and **13** in CD₃OD.^{a,b}

Position	6		7		8		13	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
1	38.7	1.00, td (13.9, 3.3)1.63	38.6	1.00, m1.63	38.5	1.00, m1.64	38.6	1.00, td (13.9, 3.3)1.63
2	25.9	1.70, m1.83, m	25.7	1.86, m1.76, m	25.7	1.731.86, m	25.9	1.70, m1.83, m
3	88.8	3.14, dd (11.5, 4.3)	89.2	3.14, dd (11.5, 4.2)	89.2	3.14, dd (11.6, 4.2)	88.9	3.14, dd (11.5, 4.1)
4	38.9	–	38.9	–	38.9	–	38.9	–
5	55.9	0.80, d (12.1)	55.7	0.80, m	55.7	0.80, m	55.8	0.80, m
6	18.0	1.431.56, m	18.0	1.421.56, m	18.0	1.42, td (13.8, 3.0)1.55, m	18.0	1.431.56, m
7	32.5	1.341.50, td (12.6, 3.3)	32.5	1.321.50, td (11.6, 4.5)	32.5	1.341.50, td (12.0, 3.1)	32.5	1.341.50, m
8	39.3	–	39.3	–	39.3	–	39.3	–
9	47.8	1.60	47.8	1.60	47.9	1.60	47.8	1.60
10	36.5	–	36.5	–	36.5	–	36.5	–
11	23.1	1.90, m	23.2	1.92, m	23.2	1.92, m	23.2	1.90, m
12	122.4	5.27, t (3.6)	122.4	5.27, t (3.5)	122.4	5.27, t (3.6)	122.4	5.27, t (3.5)
13	143.5	–	143.5	–	143.5	–	143.5	–
14	41.5	–	41.5	–	41.5	–	41.5	–
15	27.3	1.10, dm (14.2)1.80, m	27.5	1.11, dm (13.9)1.80, td (13.9, 3.2)	27.5	1.10, dm (14.1)1.80, td (14.1, 3.3)	27.5	1.10, dm (14.0)1.80, m
16	22.6	1.732.07, td (13.4, 3.7)	22.6	1.732.07, td (13.2, 3.4)	22.6	1.732.07, td (13.2, 3.3)	22.6	1.732.07, td (13.4, 3.7)
17	46.6	–	46.6	–	46.6	–	46.6	–
18	41.1	2.88, dd (13.6, 4.1)	41.2	2.88, dd (13.5, 3.7)	41.1	2.88, dd (13.6, 4.3)	41.1	2.88, dd (13.7, 4.1)
19	45.9	1.171.73, t (13.6)	45.8	1.171.73, t (13.5)	46.6	1.16, m1.73, t (13.6)	45.8	1.171.73, t (13.7)
20	30.2	–	30.2	–	30.1	–	30.2	–
21	33.5	1.241.42, td (12.9, 3.3)	33.5	1.241.42, td (13.4, 3.4)	33.5	1.241.42, td (13.4, 3.0)	33.5	1.241.42, td (13.2, 4.2)
22	31.8	1.621.74, td (13.6, 3.5)	31.8	1.621.74	31.8	1.621.74, td (13.7, 4.6)	31.8	1.621.74, td (13.6, 3.5)
23	27.2	1.07, s	27.2	1.05, s	27.2	1.06, s	27.1	1.07, s
24	15.9	0.88, s	15.8	0.88, s	15.7	0.87, s	15.8	0.87, s
25	14.8	0.97, s	14.8	0.98, s	14.8	0.98, s	14.8	0.97, s
26	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s	16.4	0.82, s
27	25.0	1.17, s	24.9	1.19, s	24.9	1.17, s	24.9	1.17, s
28	176.7	–	176.7	–	176.7	–	176.7	–
29	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s
30	22.7	0.97, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.^b Overlapped signals are reported without designated multiplicity.

aglycone was characterized for all saponins **1, 3, 4, 6, 11–16**.

For semipapposide B (**2**), the same molecular formula as **1** (C₇₆H₁₂₄O₃₈) was obtained according to its HR-ESI-MS (positive-ion mode) spectrum which displayed a pseudo-molecular ion peak at *m/z* 1645.7859 [M+H]⁺, suggesting that compounds **1** and **2** were isomeric. All NMR signals observed for **2** were comparable to those of **1** (Tables 1 and 3), excepted for the sugar linked at the C-3 position of the aglycone. Its ring protons were assigned starting from anomeric protons resonance at δ_H 4.50 (d, *J* = 5.9 Hz) by means of the ¹H-¹H COSY, TOCSY, HSQC, and HMBC experiments and it was thus identified as an α-L-arabinopyranosyl moiety, characterized by its axial hydroxyl in C-4 position (*J*_{H-3-H-4} = 3.7 Hz) (Lehbili et al., 2018a). Its attachment to the aglycone was confirmed by the HMBC correlation between δ_H 4.50 (Ara-H-1) and δ_C 89.2 (aglycone-C-3), and by the ROESY correlation between Ara-H-1 and aglycone H-3 (3.14, dd, *J* = 11.8, 4.5 Hz, H-3). Compared to scabiostellatoside C isolated from *S. stellata*, the sugar part at C-3 in **2** is composed of a supplementary rhamnopyranosyl unit (Lehbili et al., 2018a), and the signals due to gentiobiosyl at C-28 were superimposable. Hence, the structure of semipapposide B (**2**) was established as 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 3)-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 3)-β-D-xylopyranosyl-(1 → 3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-α-L-arabinopyranosyl-28-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1 → 6)-β-D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

The partial sequence –Rha-(1 → 2)-Ara-at the C-3 position of the aglycone was characterized for all saponins **2, 5, 7–10**.

Semipapposide C (**3**) exhibited in the HR-ESI-MS spectrum a quasi-molecular ion peak at *m/z* 1675.7977 [M+H]⁺ (calcd for 1675.7954), compatible with the molecular formula C₇₇H₁₂₆O₃₉. Extensive 2D NMR analysis (Tables 1 and 3) showed that compounds **1** and **3** differed only by the nature of the sugar linked at the C-3 of the Rha I. The analysis of mass spectroscopy and 1D and 2D-NMR spectra allowed the identification of one β-D-glucopyranosyl in **3** instead of a β-D-xylopyranosyl in **1**.

The partial sequence –Glc-(1 → 3)–Rha-(1 → 2)–Xyl- at the C-3 position of the aglycone was previously observed in scabiosaponin F isolated from *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004). The HMBC correlations between Glc I–H-1 (δ_H 4.50, d, *J* = 7.9 Hz) and Rha I–C-3 (δ_C 81.5) suggested that Glc I was linked to the Rha I–C-3, which was confirmed by the ROESY cross-peak between Glc I–H-1 and Rha I–H-3 (δ_H 3.92, dd, *J* = 9.6, 3.1 Hz). These evidences led to the elucidation of semipapposide C (**3**) as 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 3)-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 3)-β-D-glucopyranosyl-(1 → 3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-β-D-xylopyranosyl-28-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1 → 6)-β-D-glucopyranosyloleanolic acid.

The molecular formula of Semipapposide D (**4**) was determined as C₇₅H₁₂₂O₃₈ by the HR-ESI-MS showing a molecular ion peak at *m/z* 1631.7701 [M+H]⁺ (calcd for 1631.7692). As in compounds **1–3**, the aglycone of **4** was identified by 2D-NMR analysis as oleanolic acid. Extensive 1D and 2D-NMR analysis (Tables 1 and 3) showed that compounds **4** and **1** differed only by the sugar part. Eight sugar units were identified in **4** as three β-D-xylopyranose (Xyl I, Xyl II, and Xyl III), two α-L-rhamnopyranose (Rha I and Rha II) and three β-D-glucopyranose (Glc I, Glc II, and Glc III) (Table 3). All signals corresponding to the partial sequence Xyl II-(1 → 3)-Rha I-(1 → 2)-Xyl I-(1 → 3)-oleanolic acid were almost superimposable to those of compound **1**. The sequence of the three remaining sugar units was suggested to be Rha II-(1 → 3)-Xyl III-(1 → 4)-Glc I-(1 → 4)- linked to C-4 of Xyl II based on the HMBC correlations between Rha II-H-1 (δ_H 5.18)/Xyl III-C-3 (δ_C 82.1), Xyl III-H-1 (δ_H 4.35)/Glc I–C-4 (δ_C 79.0), and Glc I–H-1 (δ_H 4.41)/Xyl II-C-4 (δ_C 76.9). The linkage was confirmed by the rOe effects observed between Rha II-H-1 (δ_H 5.18)/Xyl III-H-3 (δ_H 3.48), Xyl III-H-1 (δ_H 4.35)/Glc I–H-4 (δ_H 3.53), and Glc I–H-1 (δ_H 4.41)/Xyl II-H-4 (δ_H 3.71). Compared to hookeroside B isolated from *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004; Tian et al., 1993a) the sugar part at C-3 in **4** is composed of a supplementary rhamnopyranosyl unit, and the signals due to gentiobiosyl at C-28 were

Table 3
¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data in CD₃OD of the sugar moieties of compounds 1–5.^a

Position	1		2		3		4		5	
	δ_C	δ_C	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
C-3	Xyl I		Ara		Xyl I		Xyl I		Ara	
1	105.0	4.39, d (7.2)	103.9	4.50, d (5.9)	105.2	4.38, d (7.3)	105.0	4.38, d (7.1)	103.9	4.50, d (4.5)
2	76.7	3.41, dd (8.5, 7.2)	74.9	3.77, dd (8.6, 5.9)	77.4	3.33	76.6	3.41, dd (8.3, 7.1)	74.9	3.77
3	77.5	3.45, t (8.5)	72.4	3.72, dd (8.6, 3.7)	77.1	3.40, t (9.4)	77.5	3.44, t (8.3)	72.4	3.73, dd (7.3, 3.3)
4	70.1	3.47, m	67.8	3.78, d (3.7)	70.2	3.48, m	70.3	3.48	67.7	3.78
5	65.2	3.19, dd (11.6, 9.8) 3.84, dd (11.6, 5.0)	63.4	3.523.86, dd (9.5, 2.2)	65.2	3.18, t (10.6) 3.85, dd (10.6, 5.5)	65.2	3.19, dd (12.5, 9.9) 3.85, dd (12.5, 2.4)	63.3	3.523.86, dd (9.9, 2.1)
1	Rha I		Rha I		Rha I		Rha I		Rha I	
1	99.9	5.38, d (1.5)	100.1	5.22, brs	100.3	5.30, d (1.3)	99.9	5.39, d (1.3)	100.0	5.21, brs
2	70.2	4.13, dd (3.1, 1.5)	70.4	4.08, dd (2.8-, 1.7)	69.5	4.27, dd (3.1, 1.3)	70.2	4.13, m	70.4	4.08, dd (3.1, 1.9)
3	80.7	3.90, dd (9.5, 3.1)	80.6	3.85, dd (9.7, 2.8)	81.5	3.92, dd (9.6, 3.1)	80.8	3.88, dd (7.1, 3.1)	80.7	3.85, m
4	71.4	3.57, t (9.5)	71.4	3.57, t (9.7)	71.2	3.57, t (9.6)	71.3	3.58, t (9.5)	71.4	3.59, t –9.6
5	68.6	4.00	68.6	3.91, m	68.7	3.98	68.6	4.02, m	68.6	3.92
6	16.6	1.25, d (6.2)	16.6	1.25, d (6.2)	16.8	1.25, d (6.2)	16.7	1.25, d (6.2)	16.6	1.25, d (6.4)
1	Xyl II		Xyl I		Glc I		Xyl II		Xyl I	
1	105.0	4.47, d (7.7)	105.1	4.48, d (7.8)	104.2	4.50, d (7.9)	104.9	4.49, d (7.6)	104.9	4.51, d (7.3)
2	74.5	3.40, dd (8.8, 7.7)	74.5	3.40, dd (9.0, 7.8)	74.7	3.41, m	73.7	3.36	73.7	3.36
3	81.7	3.49, t (8.8)	81.6	3.48, t (9.0)	82.1	3.55, t (9.0)	74.5	3.51, t (8.7)	74.4	3.51, t (8.7)
4	68.3	3.53	68.3	3.53	68.3	3.39, t (9.5)	76.9	3.71	76.9	3.71
5	65.7	3.23, dd (11.6, 9.3) 3.87, dd (11.6, 5.5)	65.7	3.24, dd (11.9, 9.2) 3.88, dd (11.9, 4.8)	76.3	3.32	63.1	3.31, t (11.8) 4.04, dd (11.8, 5.4)	63.1	3.32, t (11.8) 4.04, dd (11.8, 5.6)
6					60.9	3.72, dd (12.8, 5.7) 3.86, d (12.8)				
1	Rha II		Rha II		Rha II		Glc I		Glc I	
1	100.7	5.21, d (1.1)	100.8	5.21, brs	100.9	5.22, d (2.1)	101.7	4.41, d (7.8)	101.7	4.41, d (7.8)
2	70.8	3.97, dd (3.3, 1.1)	70.9	3.97	70.8	3.98, dd (3.3, 2.1)	73.0	3.28, dd (9.1, 7.8)	73.0	3.28, m
3	70.9	3.96, dd (9.6, 3.3)	70.8	3.95, dd (9.2, 3.3)	70.9	3.96, dd (9.4, 3.3)	74.4	3.50, t (9.1)	74.5	3.50, t (8.2)
4	82.3	3.63, t (9.6)	82.3	3.63, t (9.2)	82.3	3.64, t (9.4)	79.0	3.53, t (9.5)	79.0	3.54, t (8.2)
5	67.1	4.12, m	67.1	4.13	67.2	4.11, m	75.1	3.46	75.1	3.46
6	16.5	1.34, d (6.2)	16.6	1.34, d (6.2)	16.6	1.35, d (6.2)	60.1	3.83, dd (12.4, 4.5) 3.92, dd (12.4, 3.3)	60.1	3.83, dd (12.0, 4.5) 3.92, d (12.0)
1	Glc I		Glc I		Glc II		Xyl III		Xyl II	
1	104.1	4.62, d (7.9)	104.1	4.62, d (7.9)	104.1	4.62, d (7.9)	103.8	4.35, d (7.8)	103.9	4.35, d (7.7)
2	75.1	3.32, m	75.1	3.32	75.1	3.32	73.9	3.33, m	73.9	3.33, m
3	83.3	3.53, t (8.9)	83.3	3.53	83.3	3.53, t (9.0)	82.1	3.48, t (8.6)	82.1	3.48, t (9.2)
4	68.5	3.39, t (8.9)	68.6	3.39, dd (9.2, 5.2)	68.6	3.39	68.3	3.57 m	68.3	3.57
5	76.5	3.31	76.6	3.31	76.6	3.31	65.7	3.30, t (11.1) 3.94, dd (11.1, 3.8)	65.7	3.30, t (10.6) 3.93, dd (10.6, 4.1)
6	61.2	3.73, dd (11.9, 5.2) 3.86	61.3	3.73, dd (12.0, 4.7) 3.88, dd (12.0, 2.4)	61.0	3.72, dd (12.8, 4.8) 3.86, dd (12.8)				
1	Rha III		Rha III		Rha III		Rha II		Rha II	
1	101.3	5.16, d (1.7)	101.3	5.15, d (1.4)	101.3	5.15, d (1.4)	101.2	5.18, d (1.5)	101.2	5.18, d (1.2)
2	70.9	3.97, dd (3.3–1.7)	70.9	3.97, dd (3.5, 1.4)	70.9	3.97	70.9	3.95, dd (3.3, 1.5)	70.9	3.95, dd (3.3, 1.2)
3	70.8	3.71, dd (9.0–3.3)	70.8	3.72, dd (9.5, 3.5)	70.8	3.72, dd (9.6, 3.1)	70.8	3.72, dd (9.5–3.3)	70.8	3.72, dd (9.4, 3.3)
4	72.5	3.42, t (9.0)	72.5	3.42, t (9.5)	72.5	3.42, t (9.6)	72.6	3.41, t (9.5)	72.6	3.41, t (9.4)
5	68.7	4.01	68.7	4.00, m	68.7	4.00, m	68.5	4.04	68.6	4.03
6	16.5	1.27, d (6.2)	16.5	1.27, d (6.2)	16.5	1.27, d (6.3)	16.5	1.26, d (6.2)	16.5	1.26, d (6.3)
C-28	Glc II		Glc II		Glc III		Glc II		Glc II	
1	94.3	5.37, d (8.3)	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.36, d (8.2)	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.37, d (8.2)
2	72.4	3.35	72.4	3.35, t (8.5)	72.4	3.35, m	72.4	3.35	72.4	3.35
3	76.7	3.42, t (8.7)	76.7	3.43, t (8.6)	76.7	3.43, m	76.7	3.43, m	76.7	3.43, t (8.7)
4	69.5	3.44, t (8.7)	69.5	3.45, t (8.8)	69.5	3.46, t (8.6)	69.5	3.44, t (8.7)	69.5	3.45, t (8.7)
5	76.4	3.52, m	76.4	3.52	76.4	3.52	76.4	3.52	76.4	3.52
6	68.0	3.78, dd (11.6, 4.9) 4.14, dd (11.6, 1.4)	68.0	3.78, dd (11.5, 5.1) 4.14, dd (11.5, 1.8)	68.0	3.78, dd (11.5, 4.7) 4.13, m	68.0	3.77, dd (11.6, 4.9) 4.14, dd (11.6, 1.7)	68.0	3.78, dd (11.3, 5.2) 4.14, dd (11.3, 1.9)
1	Glc III		Glc III		Glc IV		Glc III		Glc III	
1	103.2	4.36, d (7.6)	103.2	4.36, d (7.8)	103.2	4.36, d (7.8)	103.2	4.36, d (7.8)	103.2	4.36, d (7.8)
2	73.7	3.23, t (7.8)	73.7	3.23, dd (9.2, 7.8)	73.7	3.23, dd (8.9, 7.8)	73.7	3.23, dd (9.1, 7.8)	73.7	3.23, dd (9.0, 7.9)
3	76.6	3.36	76.6	3.37, t (9.2)	76.6	3.37, m	76.6	3.37	76.6	3.37, t (9.0)
4	70.1	3.31, t (8.9)	70.1	3.30, t (9.2)	70.1	3.31, t (8.6)	70.1	3.31	70.1	3.31
5	76.6	3.27, m	76.6	3.26, m	76.6	3.26, m	76.6	3.26, m	76.6	3.26, m
6	61.3	3.66, dd (11.9, 5.6) 3.86	61.3	3.68, dd (12.0, 5.6) 3.87, dm (12.0)	61.3	3.68, dd (11.9, 5.6) 3.86	61.3	3.68, dd (12.0, 5.5) 3.85, dd (12.0, 2.4)	61.3	3.68, dd (12.0, 5.4) 3.87, dd (12.0, 2.1)

bOverlapped signals are reported without designated multiplicity.

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.

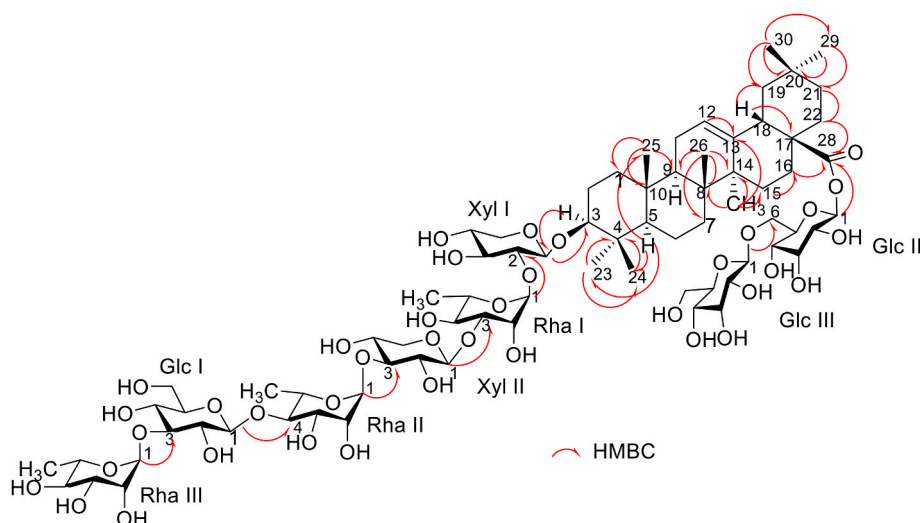


Fig. 2. Key HMBC correlations for compound 1.

superimposable. They differed with hookeroside C by the location of the last rhamnopyranosyl unit (Tian et al., 1993a). All these data were consistent with the structure of semipapposide D (4) as 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

Semipapposide E (5) has the same molecular formula $C_{75}H_{122}O_{38}$ as compound 4, as suggested by the HR-ESI-MS spectrum (m/z 1631.7699 $[M + H]^+$). The 1H and ^{13}C NMR spectra (Tables 1 and 3) indicated that 5 was an oleanolic acid bidesmoside but differed from 4 in the nature of the sugar part. The HSQC spectrum of the sugar part showed eight cross-peaks at δ_H/δ_C 4.50 (d, $J = 4.5$ Hz)/103.9, 4.51 (d, $J = 7.3$ Hz)/104.9, 4.35 (d, $J = 7.7$ Hz)/103.9, 5.21 (br s)/100.0, 5.18 (d, $J = 1.2$ Hz)/101.2, 4.41 (d, $J = 7.8$ Hz)/101.7, 5.37 (d, $J = 8.2$ Hz)/94.3 and 4.36 (d, $J = 7.8$ Hz)/103.2, indicating the presence of eight sugar units: Ara, Xyl I, Xyl II, Rha I, Rha II, Glc I, Glc II, and Glc III, respectively (Table 3). All the NMR signals observed for 5 were similar to those of 4, except for the pentosyl moiety linked to the C-3 of the aglycone which was Ara in 5 instead of Xyl I in 4. This was confirmed by the HMBC correlation at δ_H/δ_C 4.50 (Ara-H-1)/89.2 (C-3), and by the ROESY correlation at δ_H/δ_H 4.50 (Ara-H-1)/3.13 (dd, $J = 11.7, 4.3$ Hz, aglycone-H-3). Compared to scabiosaponin B isolated from *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004) the sugar part at C-3 in 5 is composed of a supplementary rhamnopyranosyl unit, and the signals due to gentiobiosyl at C-28 were superimposable. Hence, the structure of semipapposide E (5) was established as 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

For semipapposide F (6), the molecular formula $C_{82}H_{134}O_{43}$, obtained according to its $[M+H]^+$ ion at m/z 1807.8400 (in HR-ESI-MS positive-ion mode), differs from 1 only by 162 amu, corresponding to a supplementary hexosyl group. The findings from the HR-ESI-MS analysis were confirmed by the 2D-NMR data (Tables 2 and 4), which showed that compounds 6 and 1 differed only by the presence of one additional hexose unit identified as β -D-galactopyranosyl (Gal) (Lehbili et al., 2017). The observation of a HMBC correlation at δ_H/δ_C 4.46/72.9 (Gal-H-1/Glc I-C-4) and a NOESY cross-peak at δ_H/δ_H 4.46 (Gal-H-1)/3.83 (Glc I-H-4) proved the location of this additional Gal at Glc I-C-4. In addition, the HMBC correlation at δ_H/δ_C 5.39 (Rha III-H-1)/76.1 (Glc I-C-3) confirmed the linkage of Rha III to Glc C-3 position. Thus, the structure of semipapposide F (6) was elucidated as 3-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-

(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

Semipapposide G (7) exhibited in the HR-ESI-MS experiment a quasi-molecular ion peak at m/z 1807.8390 $[M+H]^+$ ($C_{82}H_{135}O_{43}$, calcd 1807.8377). Extensive 2D-NMR analysis (Tables 1– 4) showed that compounds 7 and 2 differed by the presence of one additional sugar unit which was identified as β -D-galactopyranosyl (Gal) (Table 4) (δ_H 4.46, d, $J = 7.7$ Hz; δ_C 102.9). The HMBC correlations at δ_H/δ_C 5.39 (Rha III-H-1)/76.1 (Glc I-C-3) and δ_H/δ_C 4.46 (Gal-H-1)/72.9 (Glc I-C-4) suggested the linkage of Rha III and Gal at the Glc I-C-3 and Glc I-C-4, respectively. The location of the supplementary Gal unit was confirmed by the NOESY cross-peak at δ_H/δ_H 4.46 (Gal-H-1)/3.83 (Glc I-H-4). Accordingly, the structure of semipapposide G (7) was elucidated as 3-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

The HR-ESI-MS spectrum of semipapposide H (8) showed a pseudo-molecular ion peak $[M+H]^+$ at m/z 1837.8517, indicating a molecular formula of $C_{83}H_{136}O_{44}$. It is higher than that of compound 7 by 30 amu, suggesting the presence of a hexose unit instead of a pentose unit. Extensive 2D-NMR analysis (Tables 2 and 4) showed that compounds 7 and 8 differed only by the nature of the sugar linked at Rha I-C-3. Analysis of 1D and 2D-NMR spectra allowed the identification of one β -D-glucopyranose moiety in 8 instead of the β -D-xylopyranose unit in 7. The HMBC correlations observed between Glc I-H-1 (δ_H 4.51)/Rha I-C-3 (δ_C 81.4) indicated the linkage of Glc I at Rha I-C-3, and this was confirmed by the ROESY cross-peak between Glc I-H-1 (δ_H 4.51) and Rha I-H-3 (δ_H 3.88). Thus the structure of semipapposide H (8) was elucidated as 3-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

The molecular formula of semipapposide I (9) was determined as $C_{83}H_{136}O_{45}$ by the HR-ESI-MS showing a protonated molecular ion peak at m/z 1853.8469 $[M+H]^+$. According to the 1H and ^{13}C NMR data (Tables 2–6), the compounds 9 and 8 showed the same sugar constituents and sequence of sugar chains. The difference was in the aglycone part, the methyl group at C-23 of aglycone in 8 was replaced by a secondary alcoholic function at the C-23 position. The NMR spectra of 9 showed two proton signals at δ_H 3.35 (H-23a) and 3.60 (H-23b) with

Table 4¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data in CD₃OD of the sugar moieties of compounds 6–8 and 13.^{a,b}

Position	6		7		8		13	
	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
C-3	Xyl I		Ara		Ara		Xyl I	
1	105.1	4.39, d (7.1)	103.9	4.50, d (6.2)	104.2	4.47, d (6.0)	105.2	4.39, d (7.1)
2	76.7	3.41, t (7.7)	74.9	3.78	75.5	3.71	77.0	3.33
3	77.5	3.45, t (8.7)	72.4	3.73, dd (7.7, 3.6)	72.2	3.72, dd (6.3, 4.6)	77.5	3.45
4	70.2	3.48	67.8	3.79	67.9	3.79	70.3	3.48
5	65.2	3.18, dd (11.4, 9.9)3.85	63.4	3.52, dd (10.8, 4.7)3.85, d (10.8)	63.7	3.52, dd (12.0, 1.3)3.85	65.2	3.19, t (10.7)3.84
1	Rha I		Rha I		Rha I		Rha I	
1	99.9	5.38, d (1.7)	100.1	5.22, d (1.6)	100.4	5.17, d (1.3)	100.3	5.30, d (1.3)
2	70.2	4.13, dd (3.2, 1.7)	70.4	4.08, dd (2.9, 1.6)	69.8	4.23, dd (3.2, 1.3)	69.5	4.27, dd (2.4, 1.3)
3	80.7	3.90, dd (9.4–3.2)	80.6	3.85, dd (9.6, 2.9)	81.4	3.88, dd (9.5, 3.2)	81.5	3.93, dd (9.6, 2.4)
4	71.4	3.58, t (9.6)	71.4	3.57, t (9.6)	71.2	3.58, t (9.5)	71.2	3.58, t (9.6)
5	68.6	3.99, m	68.6	3.91	68.7	3.91	68.5	4.01
6	16.7	1.25, d (6.2)	16.7	1.25, d (6.2)	16.5	1.25, d (6.2)	16.7	1.25, d (6.2)
1	Xyl II		Xyl I		Glc I		Glc I	
1	105.1	4.47, d (7.7)	105.1	4.48, d (7.9)	104.3	4.51, d (7.7)	104.2	4.51, d (7.7)
2	74.5	3.40, dd (8.7, 7.7)	74.6	3.40	74.7	3.42	74.7	3.40, dd (9.0, 7.7)
3	81.6	3.49, t (8.7)	81.6	3.48, t (8.9)	82.0	3.55, t (9.0)	82.0	3.53, t (9.0)
4	68.3	3.53	68.3	3.53	68.3	3.39	68.3	3.39, t (8.8)
5	65.7	3.22, dd (11.1, 9.2)3.87	65.7	3.23, t (10.6)3.89, dd (10.6, 2.9)	76.3	3.33	76.3	3.33
6					60.9	3.72, dd (11.6, 4.4)3.86	60.9	3.72, dd (11.6, 3.3)3.85, dd (11.6, 2.0)
1	Rha II		Rha II		Rha II		Rha II	
1	100.7	5.21, brs	100.7	5.21, brs	100.9	5.22, d (1.6)	100.9	5.22, d (1.2)
2	70.8	3.97	70.8	3.97, dd (2.8, 1.2)	70.8	3.98, dd (3.1, 1.6)	70.8	3.98
3	70.8	3.95, dd (9.4, 3.3)	70.9	3.95, dd (9.3, 2.8)	70.8	3.96	70.9	3.96, dd (9.5, 3.0)
4	82.6	3.61, t (9.4)	82.6	3.61, t (9.3)	82.6	3.61, t (9.5)	82.6	3.61, t (9.5)
5	67.1	4.13	67.1	4.13	67.2	4.12, m	67.2	4.12
6	16.7	1.34, d (6.1)	16.6	1.34, d (6.2)	16.7	1.35, d (6.1)	16.7	1.35, d (6.1)
1	Glc I		Glc I		Glc II		Glc II	
1	104.4	4.62, d (7.8)	104.4	4.62, d (7.9)	104.4	4.62, d (7.8)	104.4	4.62, d (7.8)
2	76.3	3.41	76.3	3.40	75.8	3.41	76.2	3.41
3	76.1	3.80, t (9.2)	76.1	3.80, t (9.2)	76.1	3.80, t (9.1)	76.1	3.80, t (9.2)
4	72.9	3.83, m	72.9	3.83, t (9.3)	72.9	3.81, t (9.1)	73.0	3.83, t (9.2)
5	75.8	3.41	75.8	3.40	76.2	3.41	75.8	3.41
6	59.7	3.873.95, dd (12.9, 2.2)	59.6	3.87, dd (12.2, 2.9)3.95	59.7	3.883.96, dd (12.8, 2.9)	59.6	3.88, dd (12.9, 4.1)3.95
1	Rha III		Rha III		Rha III		Rha III	
1	99.5	5.39, d (2.1)	99.5	5.39, d (1.7)	99.5	5.39, d (1.5)	99.5	5.40, brs
2	71.0	3.91, dd (3.4, 2.1)	71.0	3.90, dd (3.1, 1.7)	71.0	3.91, dd (3.2, 1.5)	71.1	3.91, dd (3.2, 1.3)
3	70.3	3.95, dd (9.3, 3.4)	70.3	3.94, dd (9.2, 3.1)	70.3	3.95, dd (9.1, 3.2)	70.3	3.95, dd (9.3, 3.2)
4	73.3	3.32, m	73.4	3.33, m	73.4	3.32	73.9	3.33
5	67.7	4.50, m	67.7	4.46	67.7	4.51	67.6	4.50
6	16.6	1.26, d (6.3)	16.5	1.26, d (6.2)	16.5	1.27, d (6.0)	16.5	1.27, d (6.2)
1	Gal		Gal		Gal		Gal	
1	102.9	4.46, d (7.6)	102.9	4.46, d (7.7)	102.9	4.46, d (8.2)	102.9	4.46 d (7.6)
2	71.8	3.45	71.7	3.45	71.7	3.46	71.7	3.46
3	73.6	3.45	73.6	3.46	73.6	3.46	73.6	3.45

(continued on next page)

Table 4 (continued)

Position	6		7		8		13	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
4	68.8	3.85	68.8	3.84	68.9	3.85, d (2.3)	68.8	3.84
5	75.3	3.51	75.3	3.51	75.3	3.52	75.3	3.51
6	60.7	3.79, 3.81	60.7	3.80	60.7	3.80	60.7	3.80
C-28	Glc II		Glc II		Glc III		Glc III	
1	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.36, d (8.2)	94.3	5.36, d (8.2)
2	72.4	3.35	72.4	3.35	72.4	3.35	72.4	3.35
3	76.7	3.43, t (8.6)	76.7	3.43, t (9.0)	76.7	3.43, t (9.1)	76.7	3.41, t (8.7)
4	69.5	3.45, t (8.6)	69.5	3.46, t (9.0)	69.5	3.46, t (9.0)	69.5	3.43, t (8.7)
5	76.4	3.52	76.4	3.53	76.4	3.52	76.4	3.52
6	68.0	3.77, dd (11.2, 4.5) 4.13, dd (11.2, 1.8)	68.0	3.78, dd (11.7, 1.8)	68.0	3.78, dd (11.6, 4.4) 4.14, dd (11.6, 1.7)	68.0	3.78, dd (11.7, 4.7) 4.14, dd (11.7, 1.9)
	Glc III		Glc III		Glc IV		Glc IV	
1	103.2	4.36, d (7.8)	103.2	4.36, d (7.8)	103.2	4.36, d (7.8)	103.2	4.36, d (7.8)
2	73.7	3.23, t (7.8)	73.7	3.23, dd (9.2, 7.8)	73.7	3.23, dd (9.1, 7.8)	73.7	3.23, dd (9.0, 7.8)
3	76.6	3.35	76.6	3.37	76.6	3.37	76.5	3.37
4	70.1	3.31, t (8.7)	70.1	3.31, t (8.7)	70.1	3.31, t (8.6)	70.1	3.31, t (8.7)
5	76.5	3.25, m	76.6	3.26, m	76.6	3.27, m	76.6	3.25
64	61.3	3.68, dd (12.0, 5.6) 3.86, dm (12.0)	61.3	3.68, dd (11.8, 5.5) 3.87	61.3	3.68, dd (11.8, 5.5) 3.87	61.3	3.67, dd (11.9, 5.5) 3.86, dd (11.9, 2.0)

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.

^b Overlapped signals are reported without designated multiplicity.

Table 5

¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data of hederagenin of compounds 9–12 in CD₃OD.^{a,b}

position	9		10		11		12	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	38.3	0.991.63	38.3	0.981.63	38.4	0.981.62	38.4	0.981.62
2	25.3	1.761.88, m	25.2	1.761.88, m	25.4	1.741.84, m	25.4	1.741.84, m
3	81.0	3.63, dd (12.1, 4.3)	80.9	3.62, dd (12.6, 3.9)	80.8	3.62	80.9	3.62, dd (10.0, 5.4)
4	42.6	–	42.6	–	42.6	–	42.6	–
5	46.7	1.28	46.8	1.28	46.6	1.27	46.7	1.28
6	17.4	1.39, m1.50, m	17.4	1.38, m1.50, m	17.4	1.39, m1.50, m	17.4	1.39, m1.50, m
7	31.8	1.30, m1.42	31.8	1.30, m1.42	31.8	1.30, m1.40, td (13.2, 2.7)	31.8	1.30, m1.42, m
8	39.3	–	39.3	–	39.4	–	39.2	–
9	47.6	1.65	47.6	1.64	47.5	1.64	47.5	1.64, m
10	36.2	–	36.2	–	36.8	–	36.2	–
11	23.2	1.92, m	23.1	1.92, m	23.2	1.92, m	23.1	1.92, m
12	122.4	5.27, t (3.5)	122.4	5.27, brs	122.4	5.27, t (3.3)	122.3	5.27, brs
13	143.6	–	143.6	–	143.6	–	143.6	–
14	41.6	–	41.6	–	41.6	–	41.6	–
15	27.5	1.10, dm (13.9) 1.80, td (13.9, 4.6)	27.5	1.10, m1.80, m	27.5	1.10, dm (13.9) 1.80, td (13.9, 4.2)	27.5	1.10, m1.80, m
16	22.6	1.732.07, td (13.4, 3.5)	22.6	1.732.07, td (13.5, 3.1)	22.6	1.732.07, td (13.8, 3.7)	22.6	1.732.07, td (13.3, 3.3)
17	46.7	–	46.6	–	46.8	–	46.7	–
18	41.1	2.88, dd (13.6, 4.0)	41.1	2.97, dd (12.8, 2.9)	41.1	2.88, dd (13.5, 4.0)	41.1	2.88, dd (13.7, 3.5)
19	45.6	1.16, m1.73, t (13.6)	45.8	1.171.73	45.8	1.171.73	45.8	1.161.73, t (13.7)
20	30.1	–	30.1	–	30.1	–	30.1	–
21	33.5	1.241.43, td (13.3, 3.6)	33.5	1.241.42	33.5	1.24, m1.42, t d (13.2, 3.2)	33.5	1.241.42, td (13.8, 3.7)
22	31.8	1.621.74	31.9	1.621.74, td (13.1, 4.8)	31.9	1.621.74	31.9	1.621.74
23	63.1	3.353.60, d (9.4)	63.1	3.353.56, m	63.0	3.343.62, d (11.6)	63.0	3.333.64, d (12.2)
24	12.4	0.72, s	12.5	0.72, s	12.5	0.72, s	12.4	0.72, s
25	15.2	1.00, s	15.2	1.00, s	15.2	1.00, s	15.2	1.00, s
26	16.3	0.82, s	16.5	0.82, s	16.5	0.82, s	16.4	0.82, s
27	24.9	1.20, s	24.9	1.19, s	24.9	1.19, s	24.9	1.19, s
28	176.7	–	176.7	–	176.7	–	176.7	–
29	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.93, s	32.1	0.92, s
30	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s	22.6	0.96, s

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.

^b Overlapped signals are reported without designated multiplicity.

Table 6¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data of the sugar moieties of compounds 9–12 in CD₃OD.^{a,b}

Position	9		10		11		12	
	δC	δH	δC	δH	δC	δH	δC	δH
C-3	Ara		Ara		Xyl I		Xyl I	
1	103.8	4.50, d (6.0)	103.5	4.52, d (6.6)	104.2	4.48, d (7.9)	104.4	4.47, d (7.3)
2	75.4	3.66	74.7	3.72, dd (8.5, 6.6)	76.4	3.36, dd (8.5, 7.9)	77.2	3.30, dd (8.8, 7.3)
3	72.8	3.66	72.9	3.71, dd (8.5, 3.4)	77.6	3.45, t (8.5)	77.3	3.41
4	68.5	3.77	68.5	3.77	70.3	3.48	70.3	3.46
5	64.5	3.53, d (9.9) 3.85, d (9.9)	64.3	3.52, dd (11.2, 5.3)3.88	65.3	3.20, t (10.5)3.84, dd (10.5, 1.9)	65.3	3.19, t (10.5)3.84
	Rha I		Rha I		Rha I		Rha I	
1	100.3	5.21, d (1.4)	99.9	5.26, brs	99.9	5.38, d (1.4)	100.2	5.30, d (1.3)
2	69.6	4.25, dd (3.4, 1.4)	70.2	4.10, dd (3.2, 1.5)	70.0	4.14, dd (3.6, 1.4)	69.4	4.28, dd (2.5, 1.3)
3	81.4	3.90, dd (9.4, 3.4)	80.7	3.88, dd (9.7, 3.2)	80.8	3.90, dd (9.5, 3.6)	81.5	3.93, dd (9.6, 2.5)
4	71.2	3.57, t (9.4)	71.4	3.57, t (9.7)	71.3	3.57, t (9.5)	71.4	3.57, t (9.6)
5	68.7	3.95	68.5	3.94	68.5	3.98	68.7	3.98
6	16.7	1.27, d (5.9)	16.7	1.26, d (6.2)	16.7	1.25, d (6.3)	16.7	1.27, d (6.2)
	Glc I		Xyl I		Xyl II		Glc I	
1	104.3	4.53, d (7.8)	105.1	4.50, d (7.5)	105.1	4.49, d (7.9)	104.3	4.52, d (7.7)
2	74.7	3.41, t (8.8)	74.6	3.40, dd (8.7, 7.5)	74.6	3.40, dd (8.6, 7.9)	74.7	3.42
3	81.9	3.54, t (8.8)	81.5	3.49, t (9.0)	81.5	3.50, t (8.6)	81.9	3.55, t (9.2)
4	68.3	3.39, t (8.8)	68.3	3.52	68.3	3.53	68.3	3.39, t (8.8)
5	76.3	3.35	65.7	3.24, t (9.7)3.87, dd (9.7, 1.9)	65.7	3.25, t (9.8)3.89, dd (9.8, 1.9)	76.3	3.36
6	61.0	3.72, dd (11.8, 4.9) 3.89, dd (11.8, 2.0)					61.0	3.72, dd (12.0, 5.3)3.88
	Rha II		Rha II		Rha II		Rha II	
1	100.9	5.22, brs	100.7	5.21, d (1.3)	100.7	5.22, d (1.2)	100.9	5.22, d (1.2)
2	70.8	3.98, dd (3.2, 1.7)	70.9	3.97, dd (2.9, 1.3)	70.8	3.97, dd (3.4, 1.2)	70.8	3.98, dd (3.0, 1.2)
3	70.8	3.96	70.8	3.95, dd (9.7, 2.9)	70.8	3.96, dd (9.4, 3.4)	70.8	3.96, dd (9.6, 3.0)
4	82.6	3.61, t (9.5)	82.6	3.61, t (9.7)	82.7	3.61, t (9.4)	82.6	3.60, t (9.6)
5	67.2	4.12, m	67.1	4.13	67.1	4.13	67.2	4.12, m
6	16.7	1.35, d (6.2)	16.6	1.34, d (6.0)	16.6	1.35, d (6.2)	16.7	1.35, d (6.1)
	Glc II		Glc I		Glc I		Glc II	
1	104.4	4.62, d (7.8)	104.4	4.62, d (7.8)	104.4	4.62, d (7.8)	104.4	4.62, d (7.8)
2	76.2	3.40	76.3	3.40	76.3	3.41, dd (9.3, 7.8)	76.2	3.41
3	76.1	3.80, t (9.2)	76.1	3.80, t (9.5)	76.1	3.81, t (9.3)	76.1	3.80, t (9.2)
4	72.9	3.83, t (9.2)	72.9	3.83, t (9.5)	72.7	3.83, t (9.3)	72.9	3.83, t (9.2)
5	75.8	3.40	75.8	3.41	75.8	3.41	75.8	3.41
6	59.6	3.88, dd (11.8, 5.3) 3.95, dm (11.8)	59.6	3.87, dd (11.7, 5.2)3.95	59.6	3.89, dd (11.3, 2.2) 3.95, dd (11.3, 3.5)	59.6	3.88 3.95, dd (12.9, 3.2)
	Rha III		Rha III		Rha III		Rha III	

(continued on next page)

Table 6 (continued)

Position	9		10		11		12	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	99.5	5.39, d (1.5)	99.5	5.39, d (1.3)	99.5	5.39 d (1.6)	99.5	5.39, d (1.3)
2	71.0	3.90, dd (3.4, 1.5)	71.0	3.90, dd (3.4, 1.3)	71.0	3.90, dd (3.3, 1.6)	71.1	3.91, dd (3.2, 1.3)
3	70.4	3.95, dd (9.2, 3.4)	70.3	3.94, dd (9.6, 3.4)	70.3	3.95, dd (9.6, 3.3)	70.3	3.95, dd (9.3, 3.2)
4	73.4	3.32	73.4	3.32	73.4	3.32	73.3	3.32
5	67.7	4.51	67.7	4.50	67.7	4.50, m	67.7	4.50, m
6	16.5	1.26, d (6.1)	16.5	1.26, d (6.2)	16.5	1.27, d (1.6)	16.5	1.27, d (6.2)
1	Gal 102.9	4.46, d (7.5)	Gal 102.9	4.46, d (7.8)	Gal 102.9	4.46, d (8.1)	Gal 102.9	4.46 d (7.3)
2	71.7	3.46	71.7	3.46	71.7	3.46	71.7	3.46
3	73.6	3.46	73.6	3.46	73.6	3.46	73.6	3.45
4	68.8	3.85	68.9	3.84	68.9	3.84	68.8	3.84
5	75.3	3.51	75.3	3.51	75.3	3.52	75.3	3.52
6	60.7	3.80	60.7	3.80	60.7	3.80	60.7	3.80
C-28	Glc III		Glc II		Glc II		Glc III	
1	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.37, d (8.2)	94.3	5.36, d (8.2)
2	72.4	3.34,	72.4	3.35	72.4	3.35	72.4	3.35
3	76.7	3.42, t (8.7)	76.7	3.43, t (8.9)	76.7	3.43, t (8.9)	76.7	3.41, t (9.1)
4	69.5	3.45, t (9.4)	69.5	3.46, t (8.9)	69.5	3.46, t (8.8)	69.5	3.41, t (9.1)
5	76.4	3.53	76.4	3.52	76.4	3.53	76.4	3.53
6	68.0	3.78, dd (11.8, 3.4) 4.14, dd (11.8, 1.9)	68.0	3.78, dd (11.7, 4.2) 4.14, dd (11.7, 2.2)	68.0	3.78, dd (11.7, 4.2) 4.14, dd (11.7, 1.5)	68.0	3.78, dd (11.7, 4.9) 4.14, dd (11.7, 1.9)
1	Glc IV 103.2	4.36, d (7.8)	Glc III 103.2	4.36, d (7.8)	Glc III 103.2	4.36, d (7.8)	Glc IV 103.2	4.36, d (7.8)
2	73.7	3.22, dd (9.2, 7.8)	73.7	3.22, dd (9.1, 7.8)	73.7	3.23, dd (9.0, 7.8)	73.7	3.2, dd (9.1, 7.8)
3	76.6	3.37, t (9.0)	76.6	3.35, t (9.0)	76.6	3.37, t (9.0)	76.6	3.37
4	70.1	3.30, t (8.6)	70.1	3.31, t (8.7)	70.1	3.31, t (8.6)	70.1	3.31, t (8.8)
5	76.6	3.25, ddd (8.6, 5.6, 2.3)	76.6	3.26, m	76.6	3.26,	76.6	3.25, m
6	61.3	3.68, dd (12.0, 5.6) 3.86, dd (12.0, 2.3)	61.3	3.68, dd (11.9, 5.5) 3.87, dd (11.9, 2.5)	61.3	3.68, dd (11.8, 5.6) 3.86, dd (11.8, 1.9)	61.3	3.67, dd (12.0, 5.6) 3.86, dd (12.0, 2.0)

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.

^b Overlapped signals are reported without designated multiplicity.

carbon signal at δ_C 63.1 (C-23) instead of the methyl signal in **8**. In addition, the HMBC correlations of H-23 with C-3 (δ_C 81.0), C-5 (δ_C 46.7), and C-24 (δ_C 12.4) also confirmed the presence of the hydroxymethyl group at C-23. Thus, the aglycone of **9** was identified as hederagenin (Alabdul Magid et al., 2006; Mahato and Kundu, 1994). Finally, the structure of **9** was assigned as 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1

\rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosylhederagenin (Fig. 1).

Semipapposide J (**10**) had the molecular formula C₈₂H₁₃₄O₄₄ [HR-ESI-MS (positive ion mode: *m/z* 1823.8344 [M+H]⁺, (calcd for 1823.8326)], suggesting that this compound possessed a supplementary hydroxyl in comparison with the previous described saponin **7**.

Comparative analysis of ^1H and ^{13}C NMR signals of compounds **10** and **7** indicated that **10** possessed the same glycosidic chains (Tables 5 and 6). The NMR spectra showed signals for only six methyl groups and one hydroxylated methylene (δ_{C} 63.1; δ_{H} 3.35 and 3.56) characterizing hederagenin as the aglycone of saponin **10** as in **9**. An extensive analysis of 1D and 2D-NMR spectra of **10** allowed to conclude that semipapposide J (**10**) was 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosylhederagenin (Fig. 1).

Semipapposide K (**11**) has the same molecular formula $\text{C}_{82}\text{H}_{134}\text{O}_{44}$ as compound **10**, as suggested by the HR-ESI-MS spectrum (m/z 1823.8350 $[\text{M}+\text{H}]^+$). As for compounds **9** and **10**, the aglycone of semipapposide K (**11**) displayed classical signals in the ^1H and ^{13}C NMR spectra of hederagenin. All the NMR signals observed for **11** were similar to those of **10** (Tables 5 and 6), except for the pentose moiety linked to the C-3 of the aglycone which was Xyl I in **11** instead of Ara in **10**. The linkage was confirmed by the HMBC correlation at $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 4.48 (Xyl I-H-1)/80.8 (aglycone-C-3), and by the NOESY correlation at $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$ 4.48 (Xyl I-H-1)/3.62 (aglycone-H-3). Therefore, semipapposide K (**11**) was elucidated as 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosylhederagenin (Fig. 1).

Semipapposide L (**12**) gave the same molecular formula $\text{C}_{83}\text{H}_{136}\text{O}_{45}$ as **9** deduced from the HR-ESI-MS spectrum (m/z 1853.8445 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd for 1853.8432). As for the pair of saponins **10** and **11**, the isomeric saponins **12** and **9** differed by the nature of pentose unit linked to the aglycone (Tables 5 and 6). Consequently, semipapposide L (**12**) was deduced to be 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosylhederagenin (Fig. 1).

Semipapposide M (**13**) was obtained as an inseparable mixture with semipapposide D (**4**) in the ratio 4:6, based on the integral intensity of the corresponding signals in their ^1H NMR spectra and HR-ESI-MS. Exhaustive efforts to separate this mixture employing normal and reversed-phase flash chromatography and HPLC using various stationary and mobile phases were failed. Therefore, the structures of these two compounds were elucidated as a mixture. According to the HR-ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ at m/z 1631.7709 and NMR analysis, semipapposide D (**4**) was identified as the major compound of this mixture. The second protonated molecular ion $[\text{M}+\text{H}]^+$ at m/z 1837.8508 corresponds to semipapposide M (**13**) that allowed the establishment of the molecular formula $\text{C}_{83}\text{H}_{136}\text{O}_{44}$. Analysis of 1D and 2D-NMR spectra of the mixture allowed the identification of the major compound as compound **4**. Comparing the ^1H and ^{13}C NMR data (Tables 2–6) and signals in 1D and 2D-NMR spectra corresponding to **13** with those of **12** showed the same sugar components and sequence of sugar chains. The difference was in the aglycone part; the hydroxymethyl group at C-23 of the aglycone in **12** was replaced by a methyl group, suggesting oleanolic acid as aglycone. Thus the structure of semipapposide M (**13**) was elucidated as 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl-28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyloleanolic acid (Fig. 1).

3. Conclusion

Plants of the genus *Scabiosa* have proved to be a rich source of triterpenoid saponins with oleanolic acid and ursolic acid skeleton type. Approximately 52 were isolated from 5 *Scabiosa* species till date: *S. rotata* (Baykal et al., 1998), *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004; Pinto et al., 2018), *S. stellata* (Lehbili et al., 2018a), *S. songarica* (Pinto et al.,

2018), and *S. sicula* (Kılınç et al., 2020). The present phytochemical study which is carried out for the first time on the Algerian *S. semipapposa* species, allowed the isolation and elucidation of 12 undescribed oleanolic acid (**1–8**) and hederagenin (**9–12**) bidesmosidic saponins, with one undescribed oleanolic acid bidesmosidic saponin (**13**), obtained as an inseparable mixture with compound **4**, together with three known oleanolic acid glycosides (**14–16**). All triterpene saponins (**1–16**) were characterized with a gentiobiose unit at C-28 and a common partial sequence as (-Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl-) or (-Rha-(1 \rightarrow 2)-Ara-) at the C-3 position of the aglycone with additional glycosylation at the C-3 of the Rha. The partial sequence (Xyl-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl-) at the C-3 position of the aglycone, was characterized for saponins **1**, **4**, **6**, **11**, **14–16**, and the partial sequence (Glc-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl-) at the C-3 position of the aglycone was characterized for saponins **3**, **12–13**, and were encountered previously in the saponins of *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004), and *S. stellata* (Lehbili et al., 2018a). Similarly, the partial sequence (Xyl-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Ara-) at the C-3 position of the aglycone was characterized for saponins **2**, **5**, **7**, **10**, and the partial sequence (Glc-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Ara-) at the C-3 position of the aglycone was characterized for saponins **8–9**, and were encountered in the saponins of *S. tschilliensis* (Zheng et al., 2004), and *S. stellata* (Lehbili et al., 2018a). Ma et al. (1992) suggesting that -Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl- sequence at C-3 could be a chemotaxonomic significance of Dipsacaceae. For example, the partial sequences Rha-(1 \rightarrow 3)-Xyl-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl- and Glc-(1 \rightarrow 4)-Xyl-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl- at the C-3 position of oleanolic acid were previously observed in saponins isolated from *Pteroccephalus bretschnidri* (Tian et al., 1993b) and *P. hookeri* (Tian et al., 1993a) (Dipsacaceae) but we see also this xylose in the Caprifoliaceae *Triplostegia grandiflora* (Ma et al., 1992). On the other hand, the partial sequences Xyl-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Ara- at the C-3 position were already observed in *Triplostegia grandiflora* (Caprifoliaceae) (Ma et al., 1991) and various *Cephalaria* species of the Caprifoliaceae family such as, *C. aristata* (Sarikahya et al., 2014), *C. taurica* (Ozer et al., 2018), *C. balansae* (Top et al., 2017), *C. pastricensis* (Godevac et al., 2006). The partial sequences Glc-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 2)-Ara- at the C-3 position were already observed in other Caprifoliaceae species such as *Cephalaria davisiana* (Kayce et al., 2014), *C. atychii* (Kayce and Kirmizigul, 2017), *Lonicera macranthoides* (Chen et al., 2012), *Tremastelma palaestinum* (Şenel et al., 2014) and *Weigela stelzneri* (Rezgui et al., 2016). The gentiobiose unit at C-28 in the isolated saponins (**1–16**) was also described in Caprifoliaceae (Tian et al., 1993) and *Scabiosa* species but was not systematic. Scabiostellatoside H and palustroside III isolated from *Scabiosa stellata* (Lehbili et al., 2018a) or songorosides A and C isolated from *S. songarica* (Pinto et al., 2018) does not bear a gentiobiose unit at C-28. In saponins isolated from *S. songarica*, the partial sequence -Rha-(1 \rightarrow 3)-Xyl- and not -Rha-(1 \rightarrow 2)-Xyl- at the C-3 position of oleanolic acid is reported (Pinto et al., 2018), it therefore seems difficult to establish a chemotaxonomic sequence in this genus. In conclusion, our investigation contributes to phytochemical database of *S. semipapposa* associated with chemotaxonomic meaning of *Scabiosa* spp. Therefore, our results are in accordance with these findings and bring an additional contribution to the knowledge of the saponins of *Scabiosa* species. They confirmed the richness of pentacyclic triterpenoids in the *Scabiosa* species observed by Pinto et al. (2018) with the presence of oleanolic acid as main aglycone, and glucose, xylose, rhamnose and arabinose as sugars. It should be interesting to evaluate the cytotoxic or antimicrobial activities of these saponins.

4. Experimental

4.1. General experimental procedures

Optical rotations values were recorded on a PerkinElmer 341 Polarimeter. The 1D and 2D NMR spectra (^1H and ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, TOCSY, ROESY, *J*-modulated HSQC, HSQC-TOCSY and HMBC) were performed using a Bruker Avance III 600 spectrometer (^1H at 600

MHz and ^{13}C at 150 MHz) equipped with a 5 mm TCI cryoprobe. 2D-NMR experiments were performed using standard Bruker microprograms (TopSpin 3.5 software). HR-ESI-MS experiments were performed using a Micromass Q-TOF instrument. Flash chromatography was carried out on a Grace Reveleris system equipped with dual UV and ELSD detection using Grace® cartridges (Silica gel or RP-C₁₈). Preparative HPLC was performed on Armen Instrument apparatus equipped with an AP 250 pump and a Knauer (Merck) detector UV K-2501. A manually packed C₁₈ column (LiChrospher, 20 × 5 cm, 12 μ) was used for preparative HPLC. The mobile phase consisted of H₂O with TFA (0.0025%) and CH₃CN with a flow rate of 75 mL/min and the chromatograms were monitored at 205, 254, 300 and 360 nm. Semi-preparative HPLC was realized on a Dionex apparatus equipped with an ASI-100 automated sample injector, a STH 585 column oven, a P580 pump, a diode array detector UVD 340S and the Chromeleon® software version 6.8. A pre-packed RP-C₁₈ column (Phenomenex 250 × 10 mm, Luna 5 μ) was used for semi-preparative HPLC. The eluting mobile phase consisted of H₂O with TFA (0.0025%) and CH₃CN with a flow rate of 5 mL/min and the chromatogram was monitored at 205 and 215 nm. Analytical HPLC experiments were performed using a ThermoFisher Ultimate 3000 (Thermo Fischer Scientific, Villebon sur Yvette, France), equipped with a 4 ways pump LPG 3400 SD, an automatic injector WPS 3000 SL, a UV/visible diode array detector 3000 and the Chromeleon® software version 6.8. A prepacked C₁₈ column Uptisphere Strategy C₁₈ (Interchim, 4.6 × 250 mm, 5 μ) was used for analytical HPLC and the mobile phase consisted of H₂O with TFA (0.0025% v/v) and CH₃CN with a flow rate of 1 mL/min and the chromatograms were monitored at 205, 215, 254, and 360 nm. TLC was performed on pre-coated silica gel 60 F₂₅₄ Merck and compounds were visualized by spraying the dried plates with 50% H₂SO₄, followed by heating.

4.2. Plant material

The plant material (roots) of *Scabiosa semipapposa* Salzem ex D.C. was collected from Alguemas, in the region of Constantine North-Eastern Algeria (latitude 36.3479 and longitude 6.650773) in May 2017. The plant material was authenticated by Mr. Kamel Kabouche. A voucher specimen (LOST Ss.05/17) has been deposited at the herbarium of LOST Laboratory, University Frères Mentouri-Constantine, Algeria.

4.3. Extraction and isolation

Dried powdered roots of *S. semipapposa* (1 kg) were extracted with 80% MeOH (3 × 10 L, 24 h) at room temperature. The resulting extracts were combined and concentrated under vacuum to give the crude extract (100 g). A part of this (55 g) was subjected to RP-C₁₈ vacuum liquid chromatography (VLC) eluted successively with MeOH–H₂O (3:7, 4:6, 6:4, 8:2 and 10:0), to give 5 main fractions (VLC-A to VLC-E, respectively). The saponins enriched fraction E (4.6 g) was fractionated by flash chromatography over silica gel, eluted by a gradient system of CHCl₃–MeOH–H₂O (10:0:0 to 4:6:0.7), in 68 min to afford 12 sub-fractions (E1–E12). Sub-fraction E₁₀ (482 mg) was purified by preparative HPLC using a gradient (30–35% CH₃CN, in 45 min) to give 56 sub-fractions. Sub-fractions E10-27-28 contained the pure compound **5** (9.4 mg). The purification by semi-prep HPLC of sub-fractions E10-35-44 (98.7 mg) led to compounds **4** (5.0 mg, *t_R* 11.5 min), **14** (2.2 mg, *t_R* 12.4 min), **3** (3.2 mg, *t_R* 13.1 min), **2** (7.28 mg, *t_R* 14.4 min), **16** (3.7 mg, *t_R* 15.4 min), **1** (10.4 mg, *t_R* 15.5 min) and **15** (2.5 mg, *t_R* 17.1 min) using a gradient 32–34% CH₃CN, in 18 min. Sub-fraction E11 (329 mg) was subjected to High Performance Flash Chromatography, over RP-C₁₈, using a binary gradient of MeOH–H₂O (20–80% MeOH in 34 min) as eluting solvent to obtain 39 sub-fractions. Sub-fraction E11-26-27 was obtained as pure compound **7** (9.3 mg). Further separations of the remaining sub-fractions E11-28-39 were performed by flash Chromatography on silica gel (CHCl₃–MeOH–H₂O 68/32/3) and then, purification by semi-prep HPLC eluted by gradient system 32–34% CH₃CN, in

18 min to give compounds **7** (19.2 mg, *t_R* 12.4 min), and **6** (21.4 mg, *t_R* 13.7 min).

Sub-fraction E12 (1.4 g) was subjected to preparative HPLC (30–35% CH₃CN, in 45 min) to afford 48 sub-fractions and the pure compounds **6** (70 mg) and **10** (7.9 mg) in the sub-fraction E12-41 and E12-14, respectively. The combined sub-fractions E12-12-13 (16.3 mg) were purified by semi-preparative HPLC (30–32% CH₃CN, in 15 min) to furnish compounds **9** (2.8 mg, *t_R* 6.9 min) and **10** (3.3 mg, *t_R* 7.7 min). Sub-fraction E12-15 (7.9 mg) was purified by semi-prep. HPLC using a gradient of 30–32% CH₃CN, in 15 min as eluant to give compounds **12** (2.6 mg, *t_R* 8.2 min) and **11** (1.9 mg, *t_R* 8.9 min) whereas the sub-fractions E12-25-27 (29.3 mg) and E12-31-34 (77 mg) were purified by semi preparative HPLC using an elution program: 32–34% of CH₃CN, for 18 min to afford compounds **8** (17.5 mg, *t_R* 10.6 min), and mixture of **13** and **4** (15.3 mg, *t_R* 11.3 min). Finally compounds **1** (9.7 mg, *t_R* 12.1 min) and **16** (1 mg, *t_R* 12.4 min) were obtained from E12-46-48 (60 mg) by semi-prep HPLC using a gradient (33–35% CH₃CN, in 15 min).

4.3.1. Semipapposide A (1)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -40.7 (c 0.83, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 1 and 2 HR-ESI-MS *m/z*: 1645.7848 [M+H]⁺ (calcd for C₇₆H₁₂₅O₃₈, 1645.7849).

4.3.2. Semipapposide B (2)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -35.4 (c 0.65, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 1 and 2 HR-ESI-MS *m/z*: 1667.7676 [M+Na]⁺, 1645.7859 [M+H]⁺ (calcd for C₇₆H₁₂₅O₃₈, 1645.7884).

4.3.3. Semipapposide C (3)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -24.8 (c 0.27, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 1 and 2 HR-ESI-MS *m/z*: 1697.7797 [M+Na]⁺, 1675.7977 [M+H]⁺ (calcd for C₇₇H₁₂₇O₃₉, 1675.7954).

4.3.4. Semipapposide D (4)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -16.8 (c 0.25, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 1 and 2 HR-ESI-MS *m/z*: 1653.7532 [M+Na]⁺, 1631.7701 [M+H]⁺ (calcd for C₇₅H₁₂₃O₃₈, 1631.7692).

4.3.5. Semipapposide E (5)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -33.3 (c 0.42, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 1 and 2 HR-ESI-MS *m/z*: 1631.7699 [M+H]⁺ (calcd for C₇₅H₁₂₃O₃₈, 1631.7692).

4.3.6. Semipapposide F (6)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -37.1 (c 0.83, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 3 and 4 HR-ESI-MS *m/z*: 1829.8225 [M+Na]⁺, 1807.8400 [M+H]⁺ (calcd for C₈₂H₁₃₅O₄₃, 1807.8377).

4.3.7. Semipapposide G (7)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -19.7 (c 0.37, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 3 and 4 HR-ESI-MS *m/z*: 1807.8390 [M+H]⁺ (calcd for C₈₂H₁₃₅O₄₃, 1807.8377).

4.3.8. Semipapposide H (8)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -27.2 (c 1.14, MeOH); ^1H (600 MHz, CD₃OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) data; see Tables 3 and 4 HR-ESI-MS *m/z*: 1859.8307 [M+Na]⁺, 1837.8517 [M+H]⁺ (calcd for C₈₃H₁₃₇O₄₄, 1837.8483).

4.3.9. Semipapposide I (9)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -17.8 (c 0.23, MeOH); ^1H (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) data; see Tables 5 and 6 HR-ESI-MS m/z : 1875.8267 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1853.8469 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{83}\text{H}_{137}\text{O}_{45}$, 1853.8432).

4.3.10. Semipapposide J (10)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -28.2 (c 0.66, MeOH); ^1H (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) data; see Tables 5 and 6 HR-ESI-MS m/z : 1845.8151 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1823.8344 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{82}\text{H}_{135}\text{O}_{44}$, 1823.8326).

4.3.11. Semipapposide K (11)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -28.6 (c 0.79, MeOH); ^1H (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) data; see Tables 5 and 6 HR-ESI-MS m/z : 1845.8151 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1823.8350 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{82}\text{H}_{135}\text{O}_{44}$, 1823.8326).

4.3.12. Semipapposide L (12)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20}$ -22.8 (c 0.21, MeOH); ^1H (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) data; see Tables 5 and 6 HR-ESI-MS m/z : 1875.8276 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1853.8445 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{83}\text{H}_{137}\text{O}_{45}$, 1853.8432).

4.3.13. Semipapposide M (13)

^1H (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) data; see Tables 3 and 4 HR-ESI-MS m/z : 1837.8508 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{83}\text{H}_{137}\text{O}_{44}$, 1837.8483).

4.4. Acid hydrolysis

A part of the saponins rich fraction E (100 mg) was hydrolyzed with 15 mL of 2 N TFA (trifluoroacetic acid, aqueous solution) at 90 °C for 4 h. After extraction with CH_2Cl_2 (3 × 7 mL), the aqueous layer was evaporated to furnish the monosaccharide residue (56.7 mg). Five sugars were identified and compared with authentic samples by TLC using BuOH-iso-PrOH-Me₂CO-H₂O (20:10:7:6) as glucose, galactose, xylose, arabinose and rhamnose. After purification of these sugars by preparative TLC in the same solvent, the optical rotation of each purified sugar was measured and the obtained values were as follow: D-glucose [10.7 mg, $R_f = 0.42$, $[\alpha]_D^{20} +33$ (c 0.89, H₂O)], D-galactose [2.7 mg, $R_f = 0.45$, $[\alpha]_D^{20} +25$ (c 0.22, H₂O)], D-xylose [3.3 mg, $R_f = 0.61$, $[\alpha]_D^{20} +18.8$ (c 0.27, H₂O)], L-arabinose [3.6 mg, $R_f = 0.36$, $[\alpha]_D^{20} +43$ (c 0.30, H₂O)], and L-rhamnose [10.4 mg, $R_f = 0.53$, $[\alpha]_D^{20} +5.6$ (c 0.86, H₂O)].

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The authors are grateful to DGRSDT-MESRS (Algeria) and to CNRS, Conseil Regional Champagne Ardenne, Conseil General de la Marne, Ministry of Higher Education and Research (MESR) in France, and to the PLANET CPER project for financial support.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112526>.

References

- Alabdul Magid, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Renimel, I., Harakat, D., Moretti, C., Lavaud, C., 2006. Triterpenoid saponins from the stem bark of *Caryocar villosum*. *Phytochemistry* 67, 2096–2102. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.009>.
- Alimbaeva, P.K., Akimaliev, A., Mukhamedzhev, M.M., 1977. Triterpene glycosides of some representatives of the Dipsacaceae family. *Khim. Prir. Soedin.* 5, 708–709. <https://doi.org/10.1007/BF00569610>.
- Al-Qudah, M.A., Ootom, N.K., Al-Jaber, H.I., Saleh, A.M., Abu Zarga, M.H., Afifi, F.U., Abu Orabi, S.T., 2017. New flavonol glycoside from *Scabiosa prolifera* L. aerial parts with *in vitro* antioxidant and cytotoxic activities. *Nat. Prod. Res.* 31, 2865–2874. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1305377>.
- Bammi, J., Douira, A., 2002. Les plantes médicinales dans la forêt de L'Achach (Plateau Central, Maroc). *Acta Bot. Malacitana* 27, 131–145. <https://doi.org/10.24310/abm.v27i0.7323>.
- Baykal, T., Panayir, T., Tasdemir, D., Sticher, O., Çalis, I., 1998. Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. *Phytochemistry* 48, 867–873. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00982-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00982-5).
- Bonet, M.À., Parada, M., Selga, A., Vallès, J., 1999. Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'alt empordà and les gulleries (catalonia, iberian peninsula). *J. Ethnopharmacol.* 68, 145–168. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00083-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00083-5).
- Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Harakat, D., Simon, A., Kabouche, Z., 2013. Triterpenoid saponins of *Genista ulicina* spach. *Phytochemistry* 93, 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.03.020>.
- Carlson, S.E., Linder, H.P., Donoghue, M.J., 2012. The historical biogeography of *Scabiosa* (Dipsacaceae): implications for old world plant disjunctions. *J. Biogeogr.* 39, 1086–1100. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02669.x>.
- Chen, Y., Shan, Y., Zhao, Y.Y., Wang, Q.Z., Wang, M., Feng, X., Liang, J.Y., 2012. Two new triterpenoid saponins from *Lonicera macranthoides*. *Chin. Chem. Lett.* 23, 325–328. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2011.12.013>.
- Don, G., 1834. *A General History of Dichlamydeous Plants Comprising Complete Descriptions of Different Orders*, vol. III. London J G and F Rivington and Others, p. 692.
- Garaev, E.A., Movsumov, I.S., Isaev, M.I., 2008. Flavonoids and oleanolic acid from *Scabiosa caucasica*. *Chem. Nat. Compd.* 44, 520–521. <https://doi.org/10.1007/s10600-008-9108-x>.
- Girre, L., 1980. *Connaitre et reconnaître les plantes médicinales*. Ouest, France, Rennes.
- Godevac, D., Mandić, B., Vajs, V., Tesević, V., Menković, N., Janacković, P., Milosavljević, S., 2006. Triterpenoid saponins and iridoid glycosides from the aerial parts of *Cephalaria pastricensis*. *Biochem. Systemat. Ecol.* 34, 890–893. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2006.05.015>.
- Kasai, R., Okihara, M., Asakawa, J., Mizutani, K., Tanaka, O., 1979. ^{13}C NMR study of α - and β -anomeric pairs of d-mannopyranosides and l-rhamnopyranosides. *Tetrahedron* 35, 1427–1432. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(79\)85038-3](https://doi.org/10.1016/0040-4020(79)85038-3).
- Kayce, P., Kirmizigul, S., 2017. Isolation and identification of a new saponin from *Cephalaria aytachii*. *Nat. Prod. Res.* 31, 50–57. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1212029>.
- Kayce, P., Sarikahya, N.B., Kirmizigul, S., 2014. Two novel saponins from *Cephalaria davisiana* (Dipsacaceae). *Phytochem. Lett.* 10, 324–329. <https://doi.org/10.1016/j.phyto.2014.07.006>.
- Kilinc, H., Masullo, M., D'Urso, G., Karayildirim, T., Alankus, O., Piacente, S., 2020. Phytochemical investigation of *Scabiosa sicula* guided by a preliminary HPLC-ESIMSⁿ profiling. *Phytochemistry* 174, 112350. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112350>.
- Kose, L.S., Moteeteete, A., Van Vuuren, S., 2015. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Maseru district of Lesotho. *J. Ethnopharmacol.* 170, 184–200. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.04.047>.
- Lehbil, M., Alabdul Magid, A., Hubert, J., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Renault, J.-H., Nuzillard, J.-M., Morjani, H., Abedinib, A., Gangloff, S.-C., Kabouche, A., 2018b. Two new bis-iridoids isolated from *Scabiosa stellata* and their antibacterial, antioxidant, anti-tyrosinase and cytotoxic activities. *Fitoterapia* 125, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.12.018>.
- Lehbil, M., Alabdul Magid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Abedini, A., Morjani, H., Sarazin, T., Gangloff, S.C., Kabouche, Z., 2017. Oleanane-type triterpene saponins from *Calendula stellata*. *Phytochemistry* 144, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.08.015>.
- Lehbil, M., Alabdul Magid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Morjani, H., Harakat, D., Kabouche, Z., 2018a. Triterpenoid saponins from *Scabiosa stellata* collected in the North-eastern Algeria. *Phytochemistry* 150, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.03.005>.
- Ma, W.-G., Wang, D.-Z., Zeng, Y.-L., Yang, C.-R., 1991. Three triterpenoid saponins from *Triplostegia grandiflora*. *Phytochemistry* 30, 3401–3404. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83217-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83217-9).
- Ma, W.-G., Wang, D.-Z., Zeng, Y.-L., Yang, C.-R., 1992. Triterpenoid saponins from *Triplostegia grandiflora*. *Phytochemistry* 31, 1343–1347. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80287-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80287-0).
- Mahato, S.B., Kundu, A.P., 1994. ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids. A compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37, 1517–1575. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89569-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89569-2).
- Moteeteete, A., Kose, L.S., 2016. Medicinal plants used in Lesotho for treatment of reproductive and post reproductive problems. *J. Ethnopharmacol.* 194, 827–849. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.062>.
- Ozer, O., Sarikahya, N.B., Nalbantsoy, A., Kirmizigul, S., 2018. Increased cytotoxic potential of infrequent triterpenoid saponins of *Cephalaria taurica* obtained through

- alkaline hydrolysis. *Phytochemistry* 152, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.04.015>.
- Papalexandrou, A., Magiatis, P., Perdetzoglou, D., Skaltsounis, A.L., Chinou, I.B., Harvala, C., 2003. Iridoids from *Scabiosa variifolia* (dipsacaceae) growing in Greece. *Biochem. Systemat. Ecol.* 31, 91–93. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00070-4](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00070-4).
- Pasi, S., Aligiannis, N., Skaltsounis, A.L., Chinou, I.B., 2002. A new lignan glycoside and other constituents from *Cephalaria ambrosioides*. *Nat. Prod. Lett.* 16, 365–370. <https://doi.org/10.1080/10575630290030720>.
- Polat, E., Alankus-Caliskan, O., Karayildirim, T., Bedir, E., 2010. Iridoids from *Scabiosa atropurpurea* L. subsp. *maritima* Arc. (L.). *Biochem. Systemat. Ecol.* 38, 253–255. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.01.004>.
- Pinto, D.C.G.A., Rahmouni, N., Beghidja, N., Silva, A.M.S., 2018. *Scabiosa* genus: a rich source of bioactive metabolites. *Medicines* 5, 110. <https://doi.org/10.3390/medicines5040110>.
- Quezel, P., Santa, S., 1963. New flora of Algeria and the desert regions meridional. Tome II. In: *French National Center for Scientific Research*, pp. 890–893.
- Reveal, J.L., Chase, M.W., 2011. Apg III: bibliographical information and synonymy of Magnoliidae. *Phytotaxa* 19, 71–134. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.19.1.4>.
- Rezgui, A., Mitaine-Offer, A.-C., Miyamoto, T., Tanaka, C., Delemasure, S., Dutartre, P., Lacaille-Dubois, M.-A., 2016. Oleanolic acid and hederagenin glycosides from *Weigela stelzneri*. *Phytochemistry* 123, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.12.016>.
- Rigat, M., Bonet, M.À., Garcia, S., Garnatje, T., Vallès, J., 2007. Studies on pharmaceutical ethnobotany in the high river ter valley (pyrenees, catalonia, iberian peninsula). *J. Ethnopharmacol.* 113, 267–277. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.004>.
- Sarikahya, N.B., 2014. Aristatosides A-C, hederagenin-type triterpene saponins from *Cephalaria aristata*. *Phytochem. Lett.* 8, 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.03.001>.
- Şenel, G., Gülcemal, D., Masullo, M., Piacente, S., Karayıldırım, T., 2014. Oleanane-Type glycosides from *Tremastelma palaestinum* (L.) Janchen. *Chem. Biodivers.* 11, 408–418. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201300121>.
- Tian, J., Wu, F.-E., Qiu, M.-H., Nie, R.L., 1993a. Triterpenoid saponins from *Pterocephalus hookeri*. *Phytochemistry* 32, 1535–1538. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85174-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85174-4).
- Tian, J., Wu, F.-E., Qiu, M.-H., Nie, R.L., 1993b. Two triterpenoid saponins from *Pterocephalus bretschnedri*. *Phytochemistry* 32, 1539–1542. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85175-Q](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85175-Q).
- Top, H., Sarikahya, N.B., Nalbantsov, A., Kirmizigul, S., 2017. Immunomodulatory, hemolytic properties and cytotoxic activity potent of triterpenoid saponins from *Cephalaria balansae*. *Phytochemistry* 137, 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.015>.
- Zhang, B.B., He, B.Q., Sun, J.B., Zeng, B., Shi, X.J., Zhou, Y., Niu, Y., Nie, S.Q., Feng, F., Liang, Y., Wu, F.H., 2015. Diterpenoids from *Saliva plebeia* R. Br. and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Molecules* 20, 14879–14888. <https://doi.org/10.3390/molecules200814879>.
- Zheng, Q., Koike, K., Han, L.K., Okuda, H., Nikaido, T., 2004. New biologically active triterpenoid saponins from *Scabiosa tschiliensis*. *J. Nat. Prod.* 67, 604–613. <https://doi.org/10.1021/np0304722>.

الهدف من هذا العمل هو الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية لنبتين *Scabiosa semipapposa* Salzm Ex D.C و *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau اللتان تنتميان على التوالي إلى العائلتين Caprifoliaceae و Cistaceae. وقد سمحت هذه الدراسة باستعمال الطرق الكروماتوجرافية (TLC و VLC و CC و MPLC و HPLC) بعزل 33 مركبًا منها 13 مركب بهياكل جديدة. تم تحديد هياكل هذه المركبات بشكل أساسي باستخدام تقنية تحليل اطياف الرنين المغنطيسي (RMN 1D, 2D, ROESY/NOEST) ، قياس انحراف الضوء $[\alpha]_D$ و المقارنة مع بيانات المراجع. ، قياس انحراف الضوء $[\alpha]_D$ و المقارنة مع بيانات المراجع. تم إجراء تقييم للأنتشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات المختلفة للنبتين باستخدام ثلاث طرق: DPPH، ABTS و CUPRAC. أظهرت نتائج هذه الاختبارات أن المستخلص 60/40 (1) للجزء الأرضي من النبتة *Scabiosa semipapposa* ومستخلصات النبتة *Tuberaria guttata* تحتوي على قوة ممتازة كمضاد للأكسدة. النشاط الأخير الذي تم فحصه هو الفاعلية المثبطة لمستخلصات النبتة *Tuberaria guttata* لإنزيم α -glucosidase والتي أظهرت ان لديها نشاط مضاد لإنزيم α -glucosidase أفضل من المركب المرجعي (أكاربوز)

الكلمات المفتاحية

RMN 1D,2D *Tuberaria guttata*, *scabiosa semipapposa* ، الطيف الكتلي عالي الدقة، النشاط المضاد للأكسدة ، نشاط مضاد لإنزيم α -glucosidase

Résumé

Les travaux menés au cours de cette thèse se sont articulés autour de l'étude phytochimique et biologique de deux plantes *Scabiosa semipapposa* Salzm Ex D.C et *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau appartenant respectivement aux familles Caprifoliaceae et Cistaceae. Cette étude a permis d'isoler par les méthodes chromatographiques (CCM, VLC, CC, MPLC et HPLC) 33 composés dont 13 correspondent à de nouvelles structures.

Leurs structures ont été élucidées principalement par l'utilisation des techniques de RMN 1D et 2D (^1H , ^{13}C J modulé, COSY H-H, HSQC J-modulé, HMBC, TOCSY et ROESY/NOESY), la spectrométrie de masse haute résolution (ESI-MS et HR-ESI-MS), la mesure des pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$, et la comparaison des données avec ceux de la littérature.

L'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes des différents extraits des deux plantes, a été réalisée par trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC). Les résultats des ces tests montrent que la fraction souterraine 40/60 (1) de l'espèce *Scabiosa semipapposa* et les extraits de l'espèce *Tuberaria guttata* présentent un excellent pouvoir antioxydant.

La dernière activité examinée est le pouvoir d'inhibition de l' α -glucosidase des extraits de l'espèce *Tuberaria guttata*. Ces derniers présentent une très bonne activité antiglycosidase qui est plus efficace que celle du standard (acarbose).

Mots clés

Scabiosa semipapposa, *Tuberaria guttata*, RMN 1D et 2D, spectrométrie de masse, activité antioxydante, activité antiglycosidase.

Abstract

The present thesis focuses on the study of the phytochemical and the biological properties of two plants *Scabiosa semipapposa* Salzm Ex D.C and *Tuberaria guttata* (L.) Fourreau belonging to the Caprifoliaceae and Cistaceae families, respectively. This study led to the isolation and identification by chromatographic methods (TLC, VLC, CC, MPLC and HPLC) of 33 compounds from which 13 are considered as new compounds.

Their structures were established particularly by the use of NMR high-field 1D and 2D technics (^1H , ^{13}C J-modulated, COSY H-H, HSQC J-modulated, HMBC and ROESY/NOESY), high resolution mass spectrometry (ESI-MS and HR-ESI-MS), measurement of rotatory power $[\alpha]_D$ and comparison with literature data.

The *in vitro* evaluation of the antioxidant activity of the different extracts of the two plants was performed using three methods (DPPH, ABTS and CUPRAC). The results showed that the fraction 40/60 (1) of *Scabiosa semipapposa* species and extracts of *Tuberaria guttata* had excellent antioxidant potentials.

The last activity assessed was the ability to inhibit α -glucosidase enzyme by *Tuberaria* extracts.. The results showed that all extracts have a good antiglycosidase power, better than that of standard (acarbose).

Keywords:

Scabiosa semipapposa, *Tuberaria guttata*, NMR 1D and 2D, mass spectroscopy, antioxidant activity, antiglycosidase activity.