

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE**

N° d'ordre :24/D3C/2023
Série :02/Ch/2023

**THÈSE : Présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat 3^{ème} cycle (LMD)**

Spécialité : Chimie pharmaceutique

INTITULÉ :

**Étude phytochimique et évaluation du potentiel antioxydant des
espèces *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* L.
et *Arenaria cerastioides* Poir.**

Par :

Chouaib AOUANE

Devant le jury :

Pr. Rachid BENKINIOUAR (U. des Frères Mentouri-Constantine 1)	Président
Pr. Ahmed KABOUCHE (U. des Frères Mentouri-Constantine 1)	Directeur de thèse
Pr. Laurence VOUTQUENNE (U. de Reims Champagne- Ardenne) NAZABADIOKO	Co-Directrice de thèse
Dr. Farida LARIT (MCA) (U. des Frères Mentouri-Constantine 1)	Examinatrice
Pr. AbdelMalik BELKHIRI (U. Salah Boubnider Constantine 3)	Examineur

Soutenu publiquement le 25/05/2023

Dédicaces

Je dédie cette thèse ...

A mes adorables parents, mon père et ma mère qui ont été une source inépuisable d'encouragement et qui m'ont aidé à être ce que je suis.

A mes chers frères

A toute ma famille

A tous mes amis et collègues

Chouaib

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé en collaboration entre le Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST) de l'Université Frères Mentouri Constantine 1 et l'équipe Chimie des Substances Naturelles de l'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR, UMR CNRS 7312), de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, en bénéficiant d'une bourse accordée par le ministère de l'enseignement supérieur de l'Algérie. Tout d'abord, j'adresse un grand merci au Professeure **Zahia KABOUCHE**, Directrice du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST) de m'avoir accueilli au sein du laboratoire et de m'avoir guidé dans mes travaux, pour son soutien, sa grande générosité, sa disponibilité et pour sa contribution à la réussite de ce travail. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude. Je remercie mon directeur de thèse, le Professeur **Ahmed KABOUCHE**, de l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour sa confiance, sa patience, sa rigueur, sa disponibilité, ses conseils et surtout pour toute l'aide qu'il m'a apporté pour la réalisation de ce travail et la rédaction de ce manuscrit.

Je tiens particulièrement à remercier très chaleureusement Madame la Professeure **Laurence VOUTQUENNE-NAZABADIOKO**, de l'Université de Reims Champagne-Ardenne de m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour avoir bien voulu encadrer cette thèse quotidiennement, pour son soutien de tous les instants, sa confiance et ses conseils. Je la remercie vivement de m'avoir donné l'opportunité de me former en phytochimie et pour toute l'aide qu'elle m'a apportée. Les remerciements exprimés ici donc ne seront jamais à la hauteur de votre implication dans la réalisation de ce travail de thèse.

Je remercie ensuite Monsieur le Professeur **Rachid BENKINIOUAR** de l'université des frères Mentouri-Constantine 1, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Mes vifs remerciements vont également à Monsieur le Professeur **Abdelmalik BELKHIRI** de l'université Salah Bounider Constantine 3 et à Madame le maître de conférences **Farida LARIT** de l'université des frères Mentouri-Constantine 1, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de participer en tant qu'examineurs de cette thèse.

Je remercie également le Docteur **Abdulmagid ALABDUL MAGID** (Institut de Chimie Moléculaire de Reims) pour tout le temps qu'il m'a accordé et pour sa contribution à la réussite

de ce travail. Ses conseils, son soutien et sa gentillesse m'ont été d'une grande aide pour l'aboutissement de ce travail, qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Par la même occasion je tiens remercier la direction du laboratoire CRBt de Constantine et plus particulièrement Dr. Chawki BENSOUICI, qui m'a été d'une grande aide lors de mon stage au sein de son laboratoire, qu'il trouve ici ma très grande reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à tous mes collègues du laboratoire LOST avec lesquels les échanges des conseils et suggestions m'ont aidé à réaliser mes travaux, plus particulièrement la doctorante Soumia CHEBCHOUB, Dr Imed Mohamed CHOUITER, Dr Ibrahim BADAOU, Dr Abbes BENMERACHE et Dr Ramzi MAADADI, qui m'ont accompagné tout au long de ma période de la thèse.

Je voudrais également remercier tous les membres de l'équipe Chimie des Substances Naturelles de Reims : le professeur Jean-Hugues RENAULT et le professeur Jean-Marc NUZILLARD. Ainsi que, Charlotte SAYAGH, Agathe MARTINEZ, Benjamin BERTAUX, Anthony ROBERT et Nicolas BORIE et, sans oublier Carine MACHADO RODRIGUES et Alexis VALLÉE pour la réalisation des spectres de masse.

Enfin, je remercie tous mes amis avec qui j'ai passé de bons moments et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel je cite en particulier : Mohamed Lamine AOUF, Omar CHERIBET, Lilia BENHMIDA, Walid MORHLI, Rayen Doha KHELAFIA et Raouf CHIRIFI.

Liste des figures

Partie I. Revue bibliographique

Figure 1 : Carte de l'hémisphère nord terrestre	4
Figure 2 : Les tribus de la famille Primulaceae	5
Figure 3 : Carte géographique du genre <i>Anagallis</i>	7
Figure 4 ; <i>Anagallis arvensis</i> : a) fragment de tige avec feuilles et fleurs	8
Figure 5 : Activité de piégeage du DPPH (%) dans les extraits AqM et AqA de <i>A. arvensis</i>	11
Figure 6 : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) ($\mu\text{g TE/mg d'extrait}$) dans les extraits aqua-méthanol (AqM) et aqua-acétone (AqA) de <i>A. arvensis</i>	12
Figure 7 : Structure d'un triterpène pentacyclique	14
Figure 8 : Noyau de base des stérols	14
Figure 9 : Triterpènes et stérols isolés d' <i>Anagallis arvensis</i>	15
Figure 10 : Saponines isolés d' <i>Anagallis arvensis</i>	19
Figure 11 : Flavonoïdes isolés d' <i>Anagallis arvensis</i>	21
Figure 12 : Structures d'acides gras d' <i>Anagallis arvensis</i>	23
Figure 13 : Structures des Chlorophylles a et b	25
Figure 14 : Structures d'acides phénoliques d' <i>Anagallis arvensis</i>	25
Figure 15 : Structures des iridoïdes isolés d' <i>Anagallis arvensis</i>	26
Figure 16 : Structures d'alcaloïdes isolés d' <i>Anagallis arvensis</i>	26
Figure 17 : Structures des phénylpropanoïdes d' <i>Anagallis arvensis</i>	27
Figure 18 : la plante entière d' <i>Anagallis monelli</i> L. ssp. <i>linifolia</i>	28
Figure 19 : Carte géographique du genre <i>Arenaria</i>	39
Figure 20 : la plante entière d' <i>Arenaria gothica</i> .	30
Figure 21 : Les formes commerciales de la plante <i>Arenaria</i>	31
Figure 22 : Structures des saponines isolées du genre <i>Arenaria</i>	34
Figure 23 : Structures des flavonoïdes isolés du genre <i>Arenaria</i>	36
Figure 24 : Triterpènes et stérols isolés du genre <i>Arenaria</i>	37
Figure 25 : Structures d'acides phénoliques isolés du genre <i>Arenaria</i>	39
Figure 26 : Structures d'alcaloïdes isolés du genre <i>Arenaria</i>	40
Figure 27 : Structures de γ -pyrones, Xanthone et Lignanes du genre <i>Arenaria</i>	41
Figure 28 : Structures d'acides et d'alcools gras isolés du genre <i>Arenaria</i>	42

Figure 29 : Structures de sucres isolés du genre <i>Arenaria montana</i>	43
Figure 30 : la plante entière d' <i>Arenaria cerastioides</i>	44
Partie II. Matériel et méthodes	
Figure 31 : Appareil flash chromatographie Grace® Reveleris®	46
Figure 32 : Profils CCM sur gel de silice normale des fractions AcOEt-BuOH d' <i>Anagallis monelli</i> .	50
Figure 33 : Profil CCM sur gel de silice de l'extrait BuOH et des fractions A-C	50
Figure 34 : Profil CCM sur gel de silice de la fraction C et les sous-fractions C ₁ -C ₇	51
Figure 35 : Profil CCM sur gel de silice des sous-fractions de la fraction C ₄	52
Figure 36 : Profil CCM sur gel de silice des sous fractions obtenue par le flash chromatographie de la fraction F ₂₁ de C ₄	53
Figure 37 : Chromatogramme CLHP analytique de la fraction F ₇₋₈ (gel de silice RP-18)	53
Figure 38 : Chromatogramme CLHP de la fraction F _{7-8-f4} (gel de silice RP-18)	54
Figure 39 : Profil CCM sur gel de silice de la fraction F ₁₀₋₁₁	54
Figure 40 : Profil CCM sur gel de silice des sous-fractions issues de F ₂₂₋₂₄	55
Figure 41 : Plaque CCM sur gel de silice des produits purs issus de la fraction F ₅₋₆	55
Figure 42 : Profil CCM sur gel de silice des fractions la fraction F ₂₆₋₂₇	56
Figure 43 : Profil CCM sur gel de silice des fractions de F ₄ et chromatographie CLHP semi-préparative de la fraction F ₄	56
Figure 44 : Profil CCM sur gel de silice des sous-fractions de la fraction C ₆	57
Figure 45 : Plaque CCM sur gel de silice des produits purs issus de la fraction F ₁₄	57
Figure 46 : Plaque CCM sur gel de silice des produits purs issus de F ₁₆ et chromatogramme de CLHP semi-préparative de la fraction F ₁₆	58
Figure 47 : Profil CCM sur gel de silice des sous-fractions de la fraction C ₇	59
Figure 48 : Plaque CCM sur gel de silice des sous fraction issues de la fraction F ₂₂	59
Figure 49 : Plaque CCM sur gel de silice des extraits CHCl ₃ , ACOEt et n-BuOH	60
Figure 50 : Profil CCM sur gel de silice des fractions de l'extrait n-BuOH	60
Figure 51 : Profil CCM sur gel de silice de la fraction D+E	61
Figure 52 : Plaque CCM sur gel de silice des produits purs de F ₂₁₋₂₄ et Chromatogramme de CLHP semi-préparative de la fraction F ₂₁₋₂₄	61
Figure 53 : La réaction de réduction du DPPH [*] en présence d'antioxydants	62
Figure 54 : Oxydation de l'ABTS en ABTS ⁺ en présence de persulfate de potassium	64

Figure 55 : Réduction de l'ABTS ^{•+} en présence d'antioxydants	64
Figure 56 : Représentation schématique du rôle de Cu(II) dans la production de radicaux	66
Figure 57 : Réduction du complexe [Cu (II)-Nc ₂] par un antioxydant	66
Partie III. Résultats et discussion	
Figure 58 : Schéma d'extraction et de purification des composés d' <i>Anagallis monelli</i>	68
Figure 59 : Structures des génines des saponosides isolés à partir d' <i>Anagallis monelli</i>	69
Figure 60 : Structures des sucres identifiés dans les saponosides isolés d' <i>Anagallis monelli</i>	70
Figure 61 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 1	71
Figure 62 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé Am 1	72
Figure 63 : Spectre de RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé Am 1 .	73
Figure 64 : Corrélations COSY de la génine du composé Am 1 .	74
Figure 65 : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 1 .	75
Figure 66a : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 1 .	76
Figure 66b : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 1 .	76
Figure 67 : Corrélations COSY et HMBC des noyaux A et B du composé Am 1 .	77
Figure 68 : Corrélations HMBC de la partie génine du composé Am 1 .	78
Figure 69a : Spectre HMBC de la partie génine étalée de 0.75 à 1.45 ppm du composé Am 1	78
Figure 69b : Spectre HMBC de la partie génine étalée de 3.50 à 4.60 ppm du composé Am 1	79
Figure 70 : Corrélations ROESY de la partie génine du composé Am 1 .	79
Figure 71 : Spectre ROESY de la partie génine du composé Am 1	81
Figure 72 : Spectre HSQC des protons anomériques du composé Am 1	81
Figure 73 : Spectre COSY de la partie osidique du composé Am 1	83
Figure 74 : L'enchaînement de la partie osidique du composé Am 1 .	84
Figure 75 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 1 .	84
Figure 76 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 1 .	85
Figure 77 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 2	87
Figure 78 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé Am 2	97

Figure 79 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 2	89
Figure 80 : Spectre COSY dans la partie génine du composé Am 2 .	90
Figure 81a : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 2 .	91
Figure 81b : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 2 .	91
Figure 82 : Spectre HMBC de la partie génine du composé Am 2 .	92
Figure 83 : Spectre COSY de la partie osidique du composé Am 2	95
Figure 84 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 2	96
Figure 85 : L'enchaînement de la partie osidique du composé Am 2 .	97
Figure 86 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 2	97
Figure 87 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 3	99
Figure 88 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 3	100
Figure 89 : Spectre ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 3	101
Figure 90 : Corrélations COSY de la génine du composé Am 3	102
Figure 91 : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 3	103
Figure 92 : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 3	104
Figure 93 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 3 .	105
Figure 94 : Spectre TOCSY de la partie osidique du composé Am 3 .	105
Figure 95 : Spectre HMBC de la partie du composé Am 3	106
Figure 96 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 3 .	107
Figure 97 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 4	109
Figure 98 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 5	109
Figure 99 : Spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés Am 4 et Am 5	110
Figure 100 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés avec les différents étalements Am 4 et Am 5 .	111
Figure 101 : Spectre RMN ^{13}C des composés avec les différents étalements Am 4 et Am 5 .	111
Figure 102 : Spectre RMN ^{13}C des composés avec les différents étalements Am 4 et Am 5 .	120
Figure 103 : Spectre HSQC de la partie génine (position 28) du composé Am 4	112
Figure 104 : Spectre HMBC de la partie génine des composés Am 4 et Am 5 .	112
Figure 105 : Corrélation HMBC (noyaux D et E) du composé Am 4 .	113
Figure 106 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 4	115
Figure 107 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 5 .	115

Figure 108 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 6	119
Figure 109 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 7	119
Figure 110 : Spectres de RMN ¹ H des composés (600 MHz, CD ₃ OD) Am 6 et Am 4	120
Figure 111 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) des composés Am 7 et Am 5	121
Figure 112 : Structure de la partie génine des composés Am 6 et Am 7	121
Figure 113 : Spectre de RMN ¹³ C des composés (150 MHz, CD ₃ OD) Am 6 et Am 7	122
Figure 114 : Spectre de RMN ¹³ C des composés Am 6 et Am 7	122
Figure 115 : structures de la partie osidique des composés Am 6 et Am 7	122
Figure 116 : Spectre COSY de la partie génine des composés Am 6 et Am 7	123
Figure 117 : Corrélations COSY (noyaux D et E) des composés Am 6 et Am 7 .	124
Figure 118 : Spectre HSQC de la partie génine des composés Am 6 et Am 7	124
Figure 119 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 6	125
Figure 120 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 7	126
Figure 121 : Spectre HMBC de la partie génine des composés Am 6 et Am 7	127
Figure 122 : Corrélations HMBC (noyaux D et E) des composés Am 6 et Am 7 .	127
Figure 123 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 6	128
Figure 124 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 7 .	128
Figure 125 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 8	132
Figure 126 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 9	133
Figure 127 : Spectres RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) des composés Am 8 et Am 9 .	133
Figure 128 : Spectres RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) des composés Am 8 et Am 9 .	134
Figure 129 : Spectres RMN ¹³ C de la partie génine des composés Am 8 et Am 9 .	134
Figure 130 : Spectres RMN ¹³ C de la partie osidique des composés Am 8 et Am 9 .	135
Figure 131 : Corrélations COSY de la partie génine des composés Am 8 et Am 9 .	135
Figure 132 : Spectre COSY de la partie génine des composés Am 8 et Am 9 .	136
Figure 133 : Spectre HSQC de la partie génine des composés Am 8 et Am 9 .	137
Figure 134 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 8	137
Figure 135 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 9	138
Figure 136 : Corrélations HMBC de la partie génine des composés Am 8 et Am 9 .	138
Figure 137 : Spectre HMBC de la partie génine des composés Am 8 et Am 9 .	139
Figure 138 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 9 .	139
Figure 139 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé Am 10	144
Figure 140 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) des composés Am 10 et Am 4	145

Figure 141 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am10 .	146
Figure 142a : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 10 .	147
Figure 142b : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 10 .	148
Figure 143 : Corrélations COSY de la partie génine du composé Am 10 .	148
Figure 144 : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 10 .	149
Figure 145 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 10 .	150
Figure 146 : Corrélations HMBC du composé Am 10 .	151
Figure 147 : Spectre HMBC de la partie génine du composé Am 10 .	152
Figure 148 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 10 .	153
Figure 149 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés Am 11,12 et 13 avec agrandissement de la zone des protons.	156
Figure 150 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés Am 11,12 et 13 .	156
Figure 151 : Spectres RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés Am 11,12 et 13 .	157
Figure 152 : Les composés Am 11,12 et 13 .	157
Figure 153 : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 11 .	158
Figure 154 : Spectre COSY des protons H-16 et H-12 du composé Am 11 .	159
Figure 155 : Corrélations COSY du composé Am 11 .	159
Figure 156 : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 11 .	160
Figure 157 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 11	161
Figure 158 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 12	162
Figure 159 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 13	163
Figure 160 : Spectre HMBC de la partie génine du composé Am 11 .	164
Figure 161 : Corrélations HMBC du composé Am 11 .	165
Figure 162 : Spectre HMBC de la partie osidique des composés Am 11, 12 et 13 .	166
Figure 163 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 14	171
Figure 164 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 14	171
Figure 165 : Spectre de COSY du composé Am 14	172
Figure 166 : Spectre HSQC du composé Am 14	173
Figure 167 : Spectre HMBC du composé Am 14	174
Figure 168 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 15	176
Figure 169 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 15	177
Figure 170 : Spectre COSY du composé Am 15	177
Figure 171 : Spectre HSQC du composé Am 15	178

Figure 172 : Spectre de HMBC du composé Am 15	179
Figure 173 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 16	181
Figure 174 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 16	182
Figure 175 : Spectre de COSY du composé Am 16	182
Figure 176 : Spectre HSQC du composé Am 16	183
Figure 177 : Spectre HMBC du composé Am 16	184
Figure 178 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 17	186
Figure 179 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 17	187
Figure 180 : Spectre de COSY du composé Am 17	187
Figure 181 : Spectre HSQC du composé Am 17	188
Figure 182 : Spectre HMBC du composé Am 17	189
Figure 183 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 18 .	191
Figure 184 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 18 .	192
Figure 185 : Spectre de COSY du composé Am 18	192
Figure 186 : Spectre HSQC du composé Am 18 .	193
Figure 187 : Spectre HMBC du composé Am 18 .	194
Figure 188 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 19	196
Figure 189 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 19 .	197
Figure 190 : Spectre de COSY du composé Am 19 .	197
Figure 191 : Spectre HSQC du composé Am 19 .	198
Figure 192 : Spectre HMBC du composé Am 19 .	199
Figure 193 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 20	202
Figure 194 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 21	202
Figure 195 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 20	203
Figure 196 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 21	203
Figure 197 : Spectre de COSY du composé Am 20	204
Figure 198 : Spectre de COSY du composé Am 21	205
Figure 199 : Spectre HSQC du composé Am 20	206
Figure 200 : Spectre HSQC du composé Am 21	207
Figure 201 : Spectre HMBC du composé Am 20	208
Figure 202 : Spectre HMBC du composé Am 21	209
Figure 203 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé Am 22	212
Figure 204 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 22 .	213

Figure 205 : Spectre de COSY du composé Am 22 .	213
Figure 206 : Spectre HSQC du composé Am 22	214
Figure 207 : Spectre HMBC du composé Am 22 .	215
Figure 208 : Spectre RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé Am 23	217
Figure 209 : Spectre de RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé Am 23 .	218
Figure 210 : Spectre de COSY du composé Am 23	218
Figure 211 : Spectre HSQC du composé Am 23 .	219
Figure 212 : Schéma d'extraction et de purification des composés d' <i>Arenaria cerastioides</i> .	223
Figure 213 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé Ac 1	224
Figure 214 : Spectre de RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé Ac 1	224
Figure 215 : Spectre COSY du composé Ac 1	225
Figure 216 : Spectre HSQC du composé Ac 1	226
Figure 217 : Spectre HMBC du composé Ac 1	227
Figure 218 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé Ac 2	229
Figure 219 : Spectre de RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé Ac 2	229
Figure 220 : Spectre de COSY du composé Ac 2	230
Figure 221 : Spectre de HSQC du composé Ac 2	231
Figure 222 : Spectre de HMBC du composé Ac 2	232
Figure 223 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé Ac 2	234
Figure 224 : Spectre de RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé Ac 3	234
Figure 225 : Spectre de COSY du composé Ac 3	235
Figure 226 : Spectre HMBC du composé Ac 3	236
Figure 227 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] par les extraits de la plante <i>A.cerastioides</i>	238
Figure 228 : Valeurs des CI ₅₀ des différents extraits de <i>A. cerastioides</i> testés pour le DPPH.	239
Figure 229 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} par les extraits de la plante <i>A.cerastioides</i> .	239
Figure 230 : Valeurs des CI ₅₀ des différents extraits de <i>A. cerastioides</i> testés pour le ABTS.	240
Figure 231 : Courbes de pourcentage d'absorbance par les extraits de la plante <i>A.cerastioides</i>	240

Figure 232 : Valeurs des $A_{0.5}$ des différents extraits de <i>A. cerastioides</i> testés pour le CUPRAC.	241
Figure 233 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] par les extraits de la plante <i>A. monelli</i>	242
Figure 234 : Valeurs des CI_{50} des différents extraits de <i>A. monelli</i> testés pour le DPPH.	242
Figure 235 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} par l'extrait et les fractions de la plante <i>A. monelli</i>	243
Figure 236 : Valeurs des CI_{50} de l'extrait et des différentes fractions de <i>A. monelli</i> testés pour l'ABTS.	243
Figure 237 : Courbes de pourcentage d'absorbance par les extraits de la plante <i>A. monelli</i>	244
Figure 238 : Valeurs des $A_{0.5}$ des différents extraits de <i>A. monelli</i> testés pour le CUPRAC.	244
Figure 239 : Histogramme comparatif des Valeurs des CI_{50} des différents extraits de <i>A. monelli</i> et <i>A. cerastioides</i> testés pour le DPPH.	245
Figure 240 : Histogramme comparatif des Valeurs des CI_{50} des différents extraits de <i>A. monelli</i> et <i>A. cerastioides</i> testés pour le ABTS.	246
Figure 241 : Histogramme comparatif des Valeurs des $A_{0.5}$ des différents extraits de <i>A. monelli</i> et <i>A. cerastioides</i> testés pour le CUPRAC.	247

Liste des tableaux

Partie I. Revue bibliographique

Tableau 1 : Propriétés pharmacologiques de la famille Primulaceae	6
Tableau 2 : classification phylogénétique du genre <i>Anagallis</i>	9
Tableau 3 : triterpènes et stérols isolés d' <i>Anagallis arvensis</i>	14
Tableau 4 : Saponines d' <i>Anagallis arvensis</i> .	17
Tableau 5 : Flavonoïdes d' <i>Anagallis arvensis</i>	20
Tableau 6 : Acides gras d' <i>Anagallis arvensis</i>	23
Tableau 7 : Activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux d' <i>Arenaria</i>	31
Tableau 8 : Activité cytotoxique des extraits méthanoliques et aqueux d' <i>Arenaria</i>	32
Tableau 9 : Saponines isolées du genre <i>Arenaria</i> (1-17).	33
Tableau 10 : Flavonoïdes du genre <i>Arenaria</i> (18-28).	36
Tableau 11 : Triterpènes et stérols isolés du genre <i>Arenaria</i> (28-38)	38
Tableau 12 : γ -pyrones, xanthone et lignanes isolés du genre <i>Arenaria</i> (46-53)	40
Tableau 13 : Acides gras isolés du genre <i>Arenaria</i> (54-63).	42

Partie II. Matériel et méthodes

Tableau 14 : Flash chromatographie de la fraction C4 (RP-18)	52
Tableau 15 : Flash chromatographie de la sous-fraction F21 de C4 (phase normale).	52
Tableau 16 : Flash chromatographie de la fraction F22-24	54
Tableau 17 : Sous-fractions obtenues par flash chromatographie de la fraction F26-27	56
Tableau 18 : Sous-fractions obtenues par flash chromatographie de la fraction C6	57
Tableau 19 : Flash chromatographie de la fraction C7	58
Tableau 20 : Fractionnement de l'extrait butanolique sur VLC.	60

Partie III. Résultats et Discussion

Tableau 21 : Sous-fractions obtenues par CLHP préparative de la fraction D+E	61
Tableau 22 : Nature des génines des composés Am (1-23).	70
Tableau 23 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 1	86
Tableau 24 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 2	98
Tableau 25 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 3	108
Tableau 26 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 4	117
Tableau 27 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 5	118
Tableau 28 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 6	130
Tableau 29 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 7	131

Tableau 30: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 8	141
Tableau 31: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 9	142
Tableau 32: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 10	154
Tableau 33: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 11	168
Tableau 34: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 12	169
Tableau 35: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 13	170
Tableau 36: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 14	175
Tableau 37: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 15	180
Tableau 38: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 16	185
Tableau 39: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 17	190
Tableau 40 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 18	195
Tableau 41: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 19	200
Tableau 42: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 20	210
Tableau 43: Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 21	211
Tableau 44 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 22	216
Tableau 45 : Déplacements chimiques en RMN du saponoside Am 23	220
Tableau 46 : Déplacements chimiques en RMN du composé Ac 1	228
Tableau 47 : Déplacements chimiques en RMN du composé Ac 2	233
Tableau 48 : Déplacements chimiques en RMN du composé Ac 3	237

Liste des abréviations

Extraits et produits isolés

Am	Produit isolé d' <i>Anagallis monelli</i>
Ac	Produit isolé d' <i>Arenaria cerastioides</i>

Solvants et réactifs

ACN	Acétonitrile
AcOEt	Acétate d'éthyle
CD₃OD	Méthanol deutéré
DPPH	1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl
Rp-18	Silice greffée C-18
TFA	Acide trifluoroacétique

Technique chromatographique

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

Détermination structurale

Ara	α -L-arabinose
Glc	β -D-glucose
Xyl	β -D-xylose
ax	axial
COSY	Correlated Spectroscopy
d	doublet
dd	doublet de doublets
ddd	doublet de doublets de doublets
dm	doublet de multiplets
dq	doublet de quadruplets
dt	doublet de triplets
eq	equatorial
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
HR-ESI-MS	High Resolution Electro Spray Ionization Mass Spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Connectivity
J	Constante de couplage (en Hz)
m	Multiplet
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire

RMN ¹³C	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone
RMN ¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
ROE	Rotation Overhauser Effect
ROESY	Rotating Overhauser Effect Spectroscopy
s	Singulet
t	Triplet
td	Triplet de doublets
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
tr	Temps de rétention
UV	Ultra-Violet
δ_C	Déplacement chimique du carbone en ppm
δ_H	Déplacement chimique du proton en ppm
m/z	Masse/charge d'un ion
SM	Spectrométrie de Masse
λ_{max}	Longueur d'onde d'absorption maximale
[α]^D	Pouvoir rotatoire
Activités biologiques	
μg/mL	Concentration en Microgramme par millilitre
CI₅₀	Concentration Inhibitrice à 50%
A_{0.5}	Concentration absorbance à 50%
Unités des grandeurs physiques et chimiques	
Hz	Hertz
min	Minute
ppm	Parties par million
uma	Unité de masse atomique
μM	Micromolaire

Table des matières

Introduction générale.....	1
I.1.1. Introduction sur la famille des <i>Primulaceae</i>	4
I.1.2. Utilisation en médecine traditionnelle	6
I.1.3. Le genre <i>Anagallis</i> L.....	7
I.1.4. Les espèces du genre <i>Anagallis</i> L.....	8
I.1.5. Classification systématique.....	9
I.1.6. Utilisation en médecine traditionnelle du genre <i>Anagallis</i> L.....	9
I.1.7. Activités biologiques du genre <i>Anagallis</i> L.....	10
I.1.7.1. Activité antioxydante	10
I.1.7.2. Activité anti-inflammatoire.....	12
I.1.7.3. Activité anti-leishmanienne	13
I.1.8. Métabolites isolés du genre <i>Anagallis</i> L.....	13
I.1.8.1. Triterpènes et stérols	13
I.1.8.2. Saponines	16
I.1.8.4. Acide gras	22
I.1.8.5. Chlorophylle.....	24
I.1.8.6. Acides phénoliques	25
I.1.8.6. Iridoïdes	25
I.1.8.7. Alcaloïdes.....	26
I.1.8.8. Les phénylpropanoïdes.....	26
I.1.9. Place dans la systématique.....	27
I.1.10. Description botanique	27
I.2.1. Le genre <i>Arenaria</i> Poir.	29
I.2.2. Utilisation en médecine traditionnelle du genre <i>Arenaria</i>	30
I.2.3. Quelques Activités biologiques des plantes du genre <i>Arenaria</i>	31
I.2.3.1. Activité antioxydante	31
I.2.4. Métabolites isolés du genre <i>Arenaria</i> Poir.....	32
I.2.4.1. Saponines	32
I.2.4.3. Triterpènes et Stérols	37
I.2.4.4. Acides phénoliques	39
I.2.4.5. Alcaloïdes.....	40
I.2.4.5. γ -pyrones, xanthone et lignanes	40
I.2.4.6. Acides et alcools gras.....	42
I.2.4.7. Sucres libres	43
I.2.5. Place dans la systématique de l'espèce <i>Arenaria cerastioides</i> Poir.....	43

I.2.6. Description botanique de l'espèce <i>Arenaria cerastioides</i> Poir	44
II.1.1.1. <i>Anagallis monelli</i> ssp. <i>linifolia</i> L.....	45
II.1.1.2. <i>Arenaria cerastioides</i> Poir.....	45
II.1.2. Techniques chromatographiques	45
II.1.2.1. Chromatographie sur colonne flash (CCF).....	45
II.1.2.2. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	46
II.1.2.3. Chromatographie liquide sous vide (VLC).....	47
II.1.2.4. Chromatographie sur résine copolymère aromatique diaion (HP-20)	47
II.1.2.5. Chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	48
II.1.3. Méthodes physico-chimiques	48
II.1.3.1. Pouvoir rotatoire	48
II.1.3.2. Spectrométrie de Masse (SM).....	49
II.1.3.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)	49
II.1.4. Extraction et purification	49
II.1.4.1. <i>Anagallis monelli</i> ssp. <i>Linifolia</i> L.....	49
II.1.4.2. <i>Arenaria cerastioides</i> poir.	59
II.1.4.2.1. Macération	59
II.1.4.2.2. Séparations et purifications.....	59
II.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante	62
II.2.1.1. Piégeage du radical DPPH'	62
II.2.1.2. Piégeage du radical cation ABTS ⁺⁺	63
II.2.1.3. La méthode CUPRAC	65
III.1.2. Détermination structurale des saponosides d' <i>Anagallis monelli</i>	69
III.1.2.1. Elucidation structurale du composé Am 1.....	71
III.1.2.2. Elucidation structurale du composé Am 2.....	87
III.1.2.3. Elucidation structurale du composé Am 3.....	99
III.1.2.4. Elucidation structurale des composés Am 4 et Am 5.....	109
III.1.2.5. Elucidation structurale des composés Am 6 et Am 7.....	119
III.1.2.6. Elucidation structurale des composés Am 8 Am 9.....	132
III.1.2.7. Elucidation structurale du composé Am 10.....	144
III.1.2.8. Elucidation structurale des composés Am 11, Am 12 et Am 13.....	155
III.1.3. Détermination structurale des composés Am 14-Am 23.....	191
III.1.3.1. Détermination structurale du composés Am 14- Am 15.....	171
III.1.3.2. Détermination structurale des composés Am 16- Am 17.....	181
III.1.3.2. Détermination structurale du composé Am 18.....	191
III.1.3.2. Détermination structurale du composé Am 19.....	196
III.1.3.2. Détermination structurale des composés Am 20 et Am 21	201

III.1.3.2. Détermination structurale du composé Am 23	217
III.2.2. Détermination structurale des flavonoïdes d' <i>Arenaria cerastioides</i>	223
<i>Nature des composés Ac1- Ac3</i>	223
III.2.2.1. Détermination structurale du composé Ac 1	224
III.2.2.2. Détermination structurale du composé Ac 2	228
III.2.2.3. Détermination structurale du composé Ac 3	233
III.2.3. Conclusion.....	237
III.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante d' <i>Arenaria cerastioides</i>	238
III.3.1.1. Piégeage du radical DPPH [•]	238
III.3.1.2. Piégeage du radical ABTS ^{•+}	239
III.3.1.3. Méthode de réduction CUPRAC	240
III.3.2. Evaluation du pouvoir antioxydant d' <i>Anagallis monelli</i>	241
III.3.2.1. Piégeage du radical DPPH [•]	242
III.3.2.2. Piégeage du radical ABTS ^{•+}	243
III.3.2.3. Méthode de réduction CUPRAC	244
III.3.3. Discussion	245
III.3.3.1. Le piégeage du radical DPPH [•]	245
III.3.3.2. Le piégeage du radical ABTS ^{•+}	246
III.3.3.3. La méthode CUPRAC	246
III.3.4. Conclusion.....	247
Conclusion générale	248
Références bibliographiques	251
Annex	259

Introduction générale

Au début de l'humanité les plantes faisaient partie de l'alimentation de l'homme, qui découvrit plus tôt que ces plantes pouvaient soulager ou guérir un certain nombre de maux (Igoli et al., 2004).

Les plantes médicinales ont été utilisées comme sources de médicaments dans pratiquement toutes les cultures. Un grand nombre d'entre elles sont utilisées sans effets secondaires par rapport aux médicaments synthétiques. Chaque plante, qu'il s'agisse d'arbustes, d'herbes ou d'algues, a sa propre utilisation dans les domaines pharmaceutique, médicinal, agricole, industriel, etc (Bekele et al., 2015).

Aujourd'hui, et malgré les progrès réalisés en médecine, plusieurs populations ont recours aux plantes pour se soigner, soit par inaccessibilité aux médicaments prescrits par la médecine moderne, soit parce que ces plantes ont donné des résultats thérapeutiques très encourageants et à moindre effets secondaires remarqués lors de leur utilisation, soit parce qu'elles sont moins agressives et moins nocives pour l'organisme (Braithwaite et al., 2014).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples, ils sont utilisés dans l'alimentation, la cosmétologie et la pharmacologie. Les médicaments d'origine végétale sont plus en plus présent dans les pharmacies, ceci grâce à leur valorisation par la recherche scientifique (Davidson-Hunt, 2000).

On estime qu'environ 80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle. À ce jour, 170 des 194 États Membres de l'OMS déclarent utiliser la médecine traditionnelle et leurs gouvernements ont demandé l'aide de l'OMS afin de constituer un corpus de preuves et de données fiables sur les pratiques et les produits de la médecine traditionnelle [1].

La recherche de nouvelles molécules pharmacologiquement actives via le screening de sources naturelles a permis la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies (Gurib-Fakim, 2006).

Les chimistes du XIX siècle firent de la phytothérapie un pas géant par les découvertes des véritables principes actifs. Depuis quatre-vingts ans, les progrès de la chimie d'extraction et la chimie de synthèse on permet d'obtenir les principes actifs à l'état pur. Il y a environ près de 240 000 à 300 000 espèces de plantes à fleurs sur terre (Diallo et Schlee, 2000). Moins de 10%

de ces espèces auraient été étudiées scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques (Anthony *et al.*, 2005).

L'Algérie possède une richesse floristique considérable. On compte environ 4000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques (Quezel et Santa., 1962 et 1963). Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constitue un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit conduire notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes. Maintenant, il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Pousset *et al.*, 1989).

L'endémisme et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle demeurent nos critères principaux de sélection de plantes en vue d'une investigation chimique.

Le but de cette étude consiste à renforcer la connaissance phytochimique et biologique sur les plantes médicinales dans le cadre du programme de recherche lancé par le Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutique (L.O.S.T). Nous nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces médicinales, *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) de la famille des *Primulaceae* et *Arenaria cerastioides* (Poir.) de la famille des *Caryophyllaceae*.

Ce manuscrit est divisé en trois parties :

- La première partie est consacrée à l'étude bibliographique qui résume les principales caractéristiques, la répartition géographique et les usages traditionnels des genres *Anagallis* (*Primulaceae*) et *Arenaria* (*Caryophyllaceae*), ainsi que les métabolites secondaires extraits des espèces appartenant à ces deux genres.
- La deuxième partie décrit le matériel utilisé, préparation de l'extrait brut hydro-alcoolique, l'extraction et purification des molécules des deux espèces *Anagallis monelli* (*Primulaceae*) et *Arenaria cerastioides*.
- La troisième partie concerne l'identification des produits isolés de chacune des espèces étudiées par des méthodes spectroscopiques RMN 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC, TOCSY et ROESY), de spectrométrie de masse haute résolution (HR-ESI-

MS), de mesure des pouvoirs rotatoires $[\alpha]^D$ et par la comparaison avec les données de la littérature. Ainsi que la discussion des résultats obtenus de l'activité antioxydante réalisés sur l'extrait BuOH des deux plantes

Partie I
Revue Bibliographique

Chapitre 1

Aperçu bibliographique sur le genre

Anagallis L.

I.1.1. Introduction sur la famille des *Primulaceae*

Les *Primulaceae* sont une grande famille d'herbe des régions tempérées comprenant un grand nombre de plantes ornementales et autant d'adventices, elles sont représentées à l'échelle mondiale par 74 genres et 1 000 espèces. Cette famille cosmopolite est surtout bien focalisée dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord (Figure 1) et particulièrement riche sur le pourtour méditerranéen, Asie et sous les tropiques, elle est limitée aux secteurs montagneux d'altitude (Qiming., 1994). En algérie on compte 22 genres et 69 espèces (Quezel et santa., 1963).

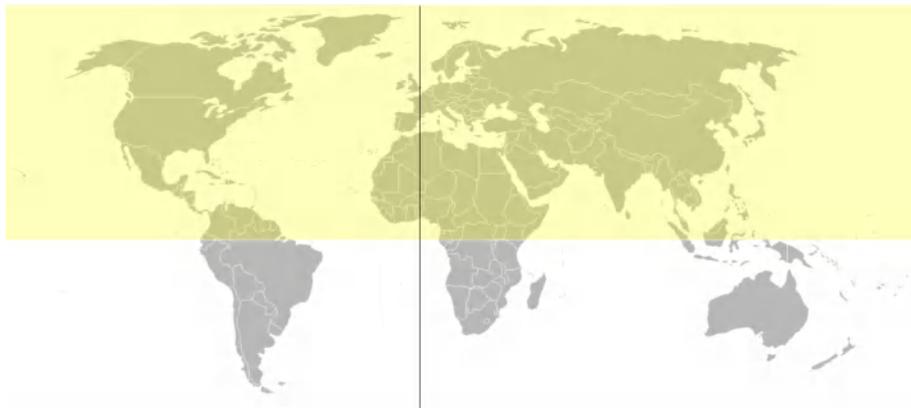


Figure 1 : Carte de l'hémisphère nord terrestre (en jaune) [2]

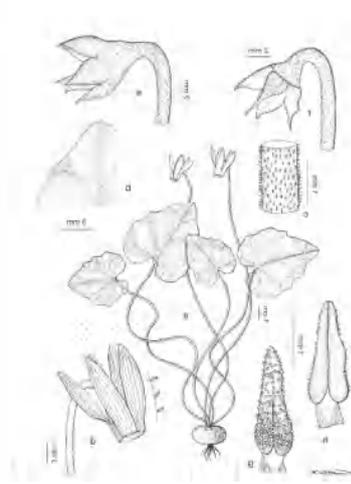
La famille des *Primulaceae* est l'une des principales familles d'angiospermes dicotylédones (Yankova-Tsvetkova et al., 2021), elle est divisée en cinq tribus : les Primuleae, Cyclamineae, Lysimachieae, Samoleae et les Corideae (Figure 2).

- **Les Primuleae :** Cette tribu est connue dans la zone tempérée Nord, les Pyrénées, les Alpes, les Carpates, les montagnes de l'Asie Mineure, le Caucase, l'Himalaya et les montagnes de la Chine. Elles ont un ovaire supère, une préfloraison imbriquée et le fruit est une capsule à déhiscence valvaire. Elle comprend les genres *Primula*, *Androsace*, *Soldanella*, *Hottonia* et *Dodecatheon*.
- **Les Cyclamineae** ont un ovaire supère, des pétales réfléchis, des tubercules, et le fruit est une capsule à déhiscence valvaire. Le genre principal est *Cyclamen*.
- **Les Lysimachieae** ont un ovaire supère, une préfloraison contortée, et le fruit est une pyxide ou une capsule à déhiscence valvaire. Les genres principaux sont *Lysimachia*, peut-être le plus primitif des genres actuels, *Trientalis* et *Anagallis*.
- **Les Samoleae** ont un ovaire semi-infère, et comprennent le genre *Samolus*.

- **Les Corideae** ont un calice épineux et des fleurs irrégulières, et comprennent le genre *Coris*.



Primula elatior



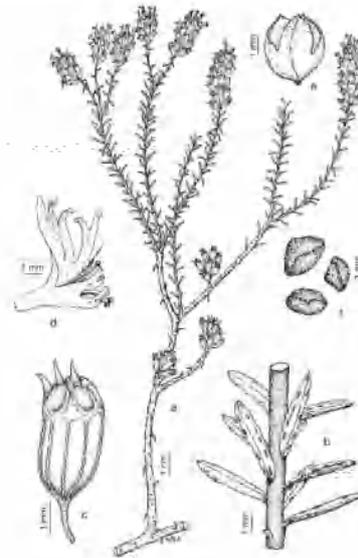
Cyclamen balearicum



Lysimachia minoricensis



Samolus valerand



Coris hispanica

Figure 2 : Les tribus de la famille des *Primulaceae* (Castroviejo, 1997)

I.1.2. Utilisation en médecine traditionnelle

Plusieurs espèces de la famille des *Primulaceae* sont largement utilisées par de nombreuses communautés ethniques comme médecine traditionnelle à travers le monde. Tandis que le plus grand nombre de plantes de la famille est utilisé en médecine traditionnelle chinoise (Jia et al., 1994a).

Les études phytochimiques de plantes de cette famille indiquent qu'elles contiennent essentiellement les saponines et les flavonoïdes (Colombo et al., 2017), les benzénoïdes, les phénylpropanoïdes et les composés azotés. Ces métabolites sont responsables de propriétés anticancéreuses, antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-oxydantes et anti-inflammatoires (Akbar, 2020 ; Awina, 2014 ; Włodarczyk et al., 2020), comme l'indique le tableau 1.

Tableau 1 : Propriétés pharmacologiques de certaines espèces de la famille des *Primulaceae*

Nom de la plante	Partie utilisée	Propriétés	Référence
<i>Ardisia crenata</i>	Racine	Inhibition de l'AMPc phosphodiesterase	(Jia et al., 1994a)
	Plante entière	Vasorelaxante	(Zaima et al., 2013)
	Fleur	Inhibition catalytique de la topoisomérase II	(Newell et al., 2010)
<i>Ardisia crispa</i>	Plante entière	Antimétastatique	(Kang et al., 2001)
	Racine	Anti-inflammatoire et anti-hyperalgésique	(Roslida et al., 2008)
		Antitumorale	(Roslida et al., 2011)
		Chimioprophylaxie	(Roslida et al., 2013)
<i>Cyclamen coum</i>	Plante entière	Antibactérienne	(Saboora et al., 2019)
		Antimicrobienne	(Çaliş et al., 1997)
<i>Lysimachia candida</i>	Plante entière	Hypertension, diabète sucré de type 2, inflammation, maladies cardiovasculaires, cancer et arthrose	(Balkau et al., 2007)
<i>Primula veris</i>	Plante entière	Sécrétoyrique, expectorante, anti-inflammatoire, diurétique, antimicrobienne, antifongique et sédative	(Bączek et al., 2017)
<i>Primula denticulata</i>	Fleur	Diabète et troubles urinaires	(Singh et al., 2014)

I.1.3. Le genre *Anagallis* L.

Le genre *Anagallis* regroupe environ 28 espèces bisannuelles ou vivaces, présentes sur une vaste zone couvrant fortement à Madagascar, en Europe, en Afrique du Nord, moyennement en Asie Tempérée et l'Amérique du Sud (Figure 3) (Manns & Anderberg, 2011).

Le terme *Anagallis* vient du grec anagélein, qui signifie rire aux éclats, car les anciens lui attribuaient des propriétés hilarantes. Cette plante a plusieurs synonymes, comme le "mouron frutescent". Les Anglais l'appellent "Blue Pimpernel". Les deux espèces les plus fréquentes sont *Anagallis arvensis* L. et *Anagallis foemina* Mill. Les deux espèces, communément appelées "murajés" ou "pasmobelarra" sont utilisées dans la province de Navarre (Espagne) pour leurs propriétés cicatrisantes en ethnomédecine et vétérinaire (Akerreta et al., 2007, 2010).



Figure 3 : Carte géographique du genre *Anagallis* [2]

Les caractérisations de genre *Anagallis* « Blue Pimpernel » (Figure 4) (Castroviejo et al., 1997). Herbes annuelles ou bisannuelles. Tiges 4-60 (-80) cm, quadrangulaires, ascendantes. Feuilles opposées, assises, de 7,5-20 x 5-12 mm, ovales à elliptiques, glanduleuses. Fleurs à l'aisselle des feuilles supérieures. Pédicelles 12-28 mm, opposés, généralement plus longs que les feuilles, recourbés en fructification. Lobes du calice de 3,2-5,3 mm, lancéolés, à bord scarieux. Lobes de la corolle 2,3-6,5 x 1,6-5 mm, ovales, entiers ou irrégulièrement dentés ou crénelés, bleus ou rouges, avec de nombreux poils glandulaires marginaux et 3-4 cellules. Étamines 1,1-2,2 mm. Modèles 22,7 mm. Capsule 2,7-5 mm. $2n = 40$. Fleurs de février- juin (Castroviejo et al., 1997).

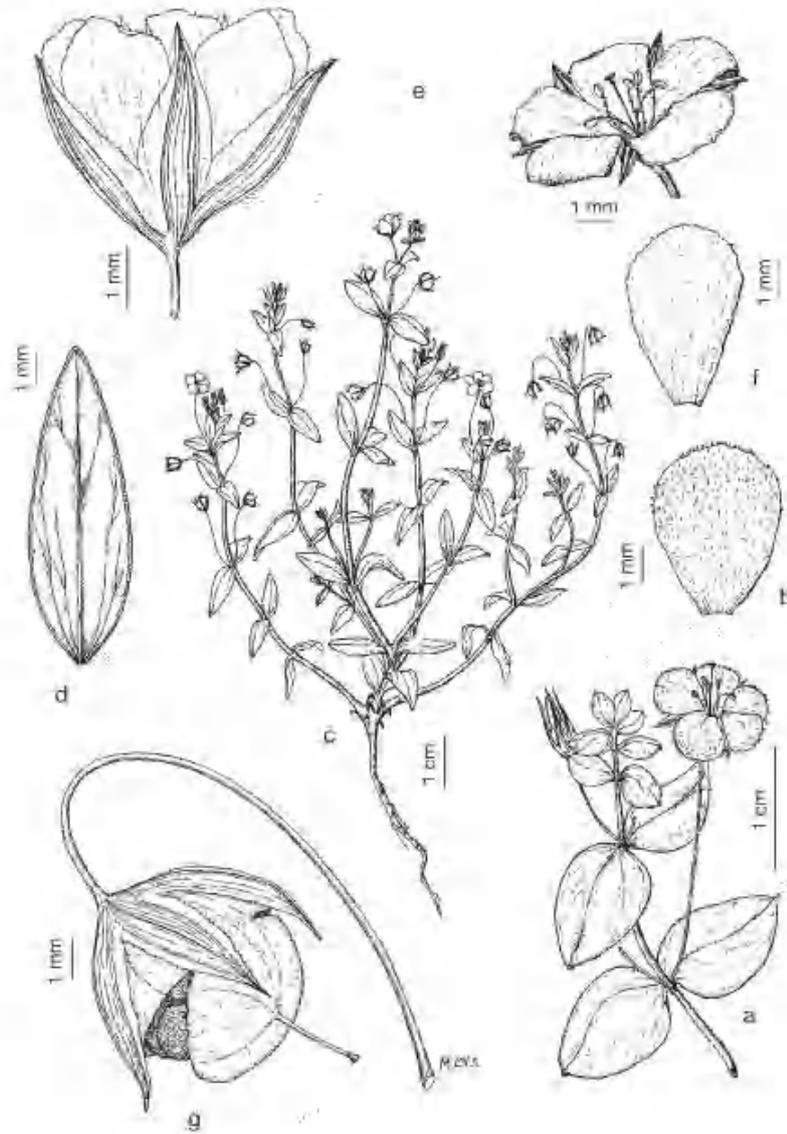


Figure 4 : *Anagallis arvensis* : a) fragment de tige avec feuilles et fleurs ; b) pétale.
c) port ; d) feuille ; e) fleur ; f) pétale ; g) fruit avec calice et pédicelle

I.1.4. Les espèces du genre *Anagallis* L.

En Algérie, le genre *Anagallis* compte une dizaine entre espèces et sous espèces qui sont (Quezel et santa., 1963) :

- *A. arvensis* L.
- *A. monelli* L.
- *A. arvensis*. ssp. *latifolia* (L.) Br. Bl. et M.
- *A. arvensis*. ssp. *parviflora* (Hoffm. et Link).
- *A. arvensis*. ssp. *platyphylla* (Bando) Batt.

- *A. arvensis* ssp. *phoenicea* (Goué.ln)Vollus.
- *A. repens* pomel.
- *A. tenella* L.
- *A. crassifolia* (Thore)
- *A. monelli*. ssp. *collina* (Schousb.) M.
- *A. monelli*. ssp. *linifolia* (L.) M.

I.1.5. Classification systématique

Le genre *Anagallis* appartient la famille des *Primulaceae*, selon la classification classique, ou des *Myrsinaceae*, selon la classification phylogénétique (Tableau 2) (Manns & Anderberg, 2009).

Tableau 2 : la classification classique et classification phylogénétique du genre *Anagallis*

<u>Classification classique</u>	
Règne	<i>Plantae</i>
Sous_règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliopsida</i>
Sous_classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Primulales</i>
Famille	<i>Primulaceae</i>
Genre	<i>Anagallis</i>
<u>Classification phylogénétique</u>	
Ordre	<i>Ericales</i>
Famille	<i>Myrsinaceae</i>

I.1.6. Utilisation en médecine traditionnelle du genre *Anagallis* L.

L'importance des plantes médicinales pour l'état d'esprit des individus et des populations ne peut être ignorée. Les plantes à importance thérapeutique sont composées de substances qui exercent une vive activité physiologique sur le corps humain et peuvent jouer un rôle essentiel dans la guérison des maladies.

Le genre *Anagallis* a plusieurs noms (mouron frutescent et Blue Pimpernel) et (chari sebane) en Arab (Gairola et al., 2010) et contient des plantes médicinales reconnues dans la médecine traditionnelle par ses propriétés thérapeutiques. Les naturopathes conventionnels de la province

du Punjab (Pakistan) font un usage trivial d'*Anagallis arvensis* L. (*Primulaceae*) pour soigner la diarrhée, la constipation, l'asthme ainsi que l'hypertension (Saqib et al., 2021). A Taiwan, l'herbe entière d'*Anagallis arvensis* est utilisée pour traiter les problèmes de foie et en Italie, a été utilisé dans les pratiques vétérinaires pour soigner les mastites, en raison de ses puissantes propriétés anti-inflammatoires et propriétés émoullientes (Gairola et al., 2010). En Inde, la plante entière d'*Anagallis arvensis* est utilisée comme sédatif, stimulant et antiasthmatique chez les bovins, il est intéressant de noter que l'*Anagallis arvensis* figurait parmi 4 plantes pour traiter la conjonctivite. Dans les zones rurales du Népal, cette plante est utilisée comme un agent pesticide, tandis que la plante entière est utilisée pour l'empoisonnement des poissons. Elles servent à la fabrication de pommade pour guérir les blessures des mains (Gairola et al., 2010). En revanche, les graines du genre *Anagallis* sont employées comme sudorifique en cas de rage. De plus, elle est considérée comme un remède performant pour le traitement des infections externes telles que les plaies et les boutons infectés. Dans certains cas, une infusion est préparée avec les plantes pour prévenir les infections internes ou systémiques, bien que, ils sont populairement connus (López et al., 2011).

I.1.7. Activités biologiques du genre *Anagallis* L.

I.1.7.1. Activité antioxydante

Par la réduction du radical libre DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) :

L'essai de piégeage du DPPH le plus fréquent et le plus immédiat est basé sur la tendance des antioxydants végétaux (donneur d'ions H⁺) à atténuer les radicaux libres violets du DPPH et à produire un produit jaune piégé à 517nm (Moon & Shibamoto, 2009). Le principe est expliqué en partie expérimentale.

Test : Le potentiel de piégeage des radicaux libres DPPH (%) a été évalué selon la méthode de (Brand-Williams et al., 1995) avec des modifications mineures. Environ 1 mL de BHT (standard) ou d'extraits de plantes (*Anagallis arvensis*) à différentes concentrations (20 à 100 µL) ont été mélangés avec 3mL de solution de DPPH (0,004% préparée dans du méthanol) pendant 1 h. L'absorbance des radicaux piégés résultants a été calculée à partir des résultats de l'analyse. L'absorbance du produit jaune piégé résultant a été mesurée (à 517 nm) et les valeurs de piégeage ont été calculées par la formule suivante :

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A_t}{A_c}\right) \times 100$$

Où A_t et A_c sont les absorbances de l'échantillon (traitements) et du témoin à 517 nm, respectivement. La CI_{50} (concentration inhibitrice de 50 %) du DPPH a été mesurée en traçant l'activité de piégeage en ordonnée et la concentration des extraits végétaux en abscisse.

Le potentiel de piégeage des radicaux dans les extraits AqM (aqua-méthanol) et AqA (aqua-acétone) de *A. arvensis* a montré une relation dose-dépendante (Figure 5) avec une différence significative ($p < 0,05$). L'activité de piéger les radicaux libres du DPPH (%) à une concentration de 100 $\mu\text{g/mL}$ était de $65,06 \pm 1,87$ et $96,75 \pm 1,00$ dans AqM, tandis que $50,19 \pm 1,64$ et $96,75 \pm 1,00$ dans AqA pour *A. arvensis* et BHT, respectivement (Figure 5). Le DPPH IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) était de 69,86 et 1,21 dans AqM, tandis que 104,05 et 1,21 dans AqA pour *A. arvensis* et BHT (standard), respectivement (Saxena, et al., 2021).

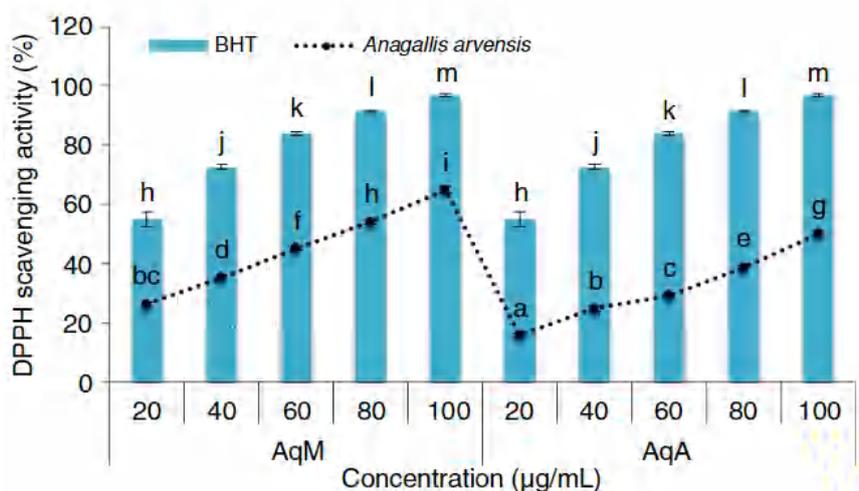


Figure 5 : Activité de piégeage du DPPH (%) dans les extraits AqM et AqA de *A. arvensis* à différentes concentrations. Les lettres en exposant indiquent une différence significative ($p < 0,05$)

Par la réduction du fer « FRAP » (Ferric reducing-antioxidant power) :

Le test du pouvoir réducteur explique la capacité des antioxydants (réducteurs) de la plante à réduire le complexe jaune Fe^{3+} -TPTZ (ferrique tripyridyl triazine) en complexe bleu Fe^{2+} -TPTZ. L'intensité de la couleur bleue à 593 nm explique plus de pouvoir réducteur de l'extrait végétal (Huang et al., 2005).

Test : Le pouvoir réducteur ferrique de l'extrait végétal a été déterminé par la méthode modifiée de (Benzie & Strain, 1996). Pré-incubé à 37 °C, le réactif FRAP frais (300 mM tampon de

sodium, pH 3.6 ; 10 mM TPTZ dans 40 mM HCl et 20 mM FeCl₃) a été mis en réaction avec 1 mL d'extraits de plantes de différentes concentrations (20 à 100 µL) pendant 30 minutes à 37 °C. L'absorbance à 593 nm du produit bleu résultant (Fe²⁺-TPTZ) a été mesurée. L'absorbance à 593 nm du produit bleu résultant (complexe Fe²⁺-TPTZ) a été mesurée et le pouvoir réducteur a été calculé en µg d'équivalent trolox (TE) par mg extrait.

Le pouvoir antioxydant réducteur de l'ion fer (III) (µg TE/mg d'extrait) augmente avec l'augmentation des concentrations (Figure 6) à un niveau significatif ($p < 0,05$). À la plus forte concentration (100 µg/mL), le pouvoir réducteur (µg TE/mg d'extrait) de *A. arvensis* était de $73,82 \pm 1,21$ et de $14,26 \pm 0,80$ dans les extraits aqua-méthanol et aqua-acétone, respectivement (Saxena, et al., 2021).

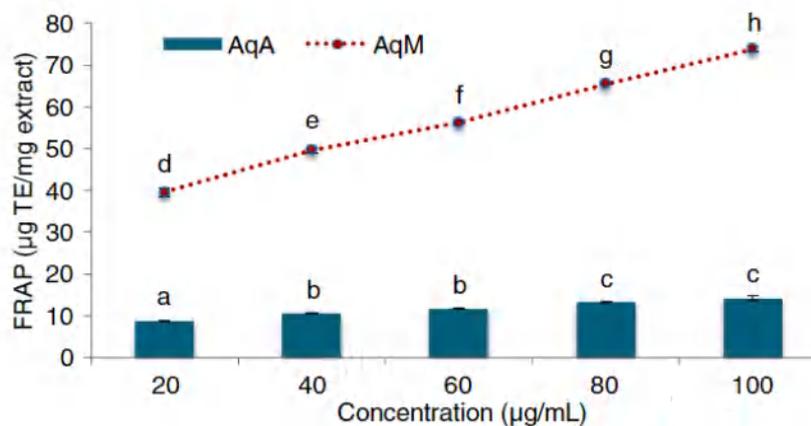


Figure 6 : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) (µg TE/mg d'extrait) dans les extraits aqua-méthanol (AqM) et aqua-acétone (AqA) de *A. arvensis* à différentes concentrations. Les lettres en exposant indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

I.1.7.2. Activité anti-inflammatoire

Anagallis arvensis a été signalé comme possédant une activité anti-inflammatoire. L'indométacine, un médicament analgésique et anti-inflammatoire, a été utilisée comme standard pour l'inhibition de la COX-1 et pour le contrôle de l'inhibition de la COX-2, on a utilisé le nimesulide qui a une sélectivité contre COX-2. L'extrait méthanolique de *A. arvensis* a démontré une inhibition de la cyclooxygénase à une concentration significative et a réduit la synthèse de prostaglandine ; cependant, l'extrait sous forme aqueuse n'était actif qu'à une concentration égale à 1mg/mL. Cependant, l'indométhacine (5 µM) avait le potentiel de minimiser la synthèse des prostaglandines à un niveau de 42% et la même chose pour le nimesulide (200 µM) même pour le nimésulide (200 µM) qui avait 47% de capacité à réduire la synthèse des prostaglandines. Les saponines et les flavonoïdes sont les constituants

responsables du potentiel anti-inflammatoire de la plante *Anagallis arvensis* (López et al., 2011).

I.1.7.3. Activité anti-leishmanienne

L'extrait alcoolique de la plante entière *Anagallis arvensis* est efficace pour l'activité anti-leishmania ($IC_{50} < 0,125 \mu\text{g/mL}$, $SI > 128$). Le test a été confirmé en utilisant la référence de maesabalides, au même point, la référence et l'extrait végétal ont montré une tache violette (Vermeersch et al., 2009).

I.1.7.4. Activité antimicrobienne

L'extrait méthanolique d'*Anagallis arvensis* a été évalué pour ses propriétés antimicrobiennes. L'activité antibactérienne a été déterminée en utilisant le standard de la streptomycine contre quatre bactéries différentes qui sont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* avec leurs références ATCC 11775, ATCC 12600, ATCC 9027 et ATCC 6051, respectivement. L'ensemble du protocole a été réalisé en triplicata. La concentration minimale inhibitrice d'un champignon et de quatre bactéries a été calculée pour tous les extraits individuellement. La croissance de deux bactéries *E. coli* et *B. subtilis* a été inhibée par l'extrait méthanolique de *A. arvensis*. Les saponines semblent jouer un rôle en tant que constituant antimicrobien, car elles peuvent endommager les cellules (López et al., 2011). Une activité significative a été enregistrée pour l'extrait éthanolique d'*Anagallis arvensis* contre *P. vulgaris* qui est un bacille gram-négatif (Ali-Shtayeh et al., 1998).

I.1.8. Métabolites isolés du genre *Anagallis* L.

I.1.8.1. Triterpènes et stérols

Les triterpènes forment un grand groupe de substances naturelles avec des structures cycliques relativement complexes constituées d'un squelette carboné basé sur six unités d'isoprène (Figure 7). En revanche, les stérols possèdent une chaîne latérale de 8 atomes de carbone ou plus attachée au carbone 17 et un groupe hydroxyle (-OH) substitué au carbone 3 (Figure 8).

Ces substances se trouvent en abondance dans les organismes vivants, en particulier chez les animaux et dans certaines algues rouges. Ils sont solubles dans les solvants organiques et ont un point de fusion élevé.

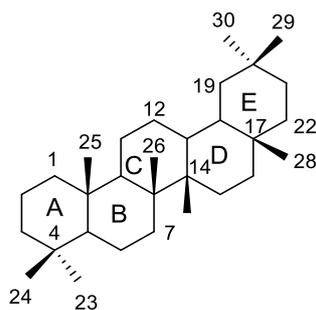


Figure 7 : Structure d'un triterpène pentacyclique

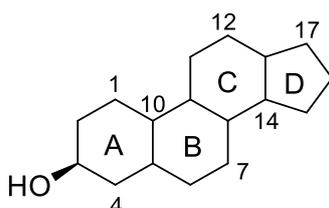


Figure 8 : Noyau de base des stérols

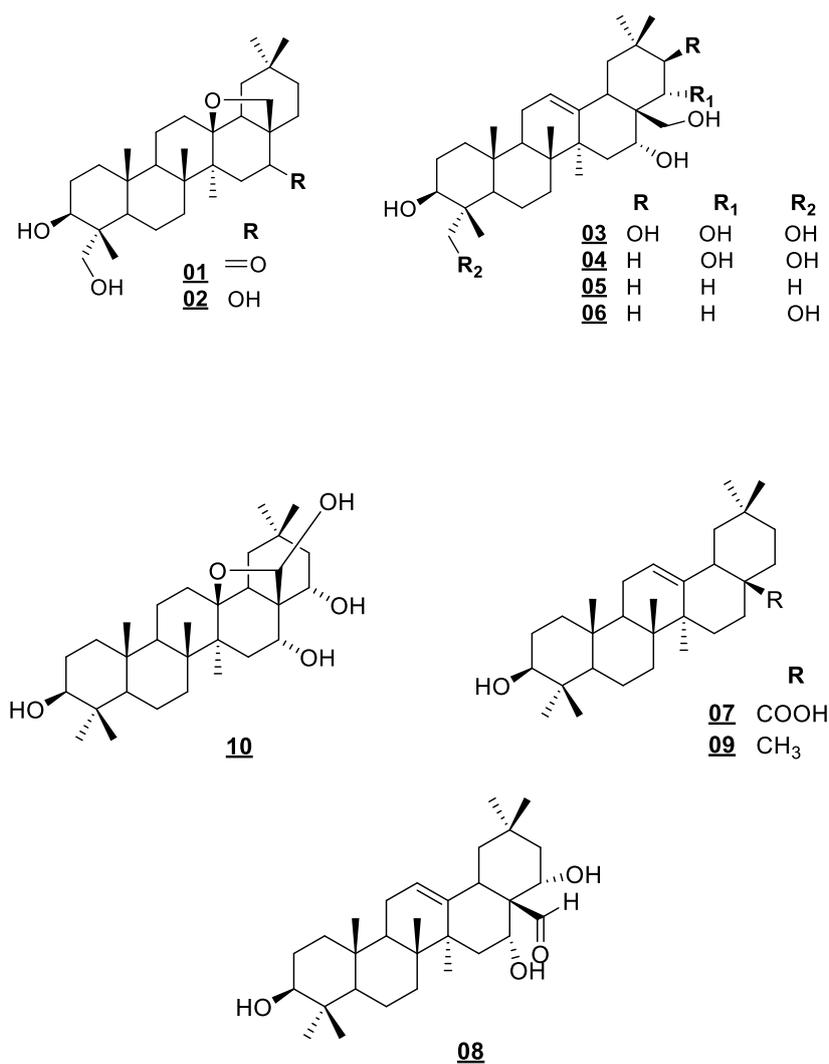
Des études antérieures ont permis d'isoler une vingtaine de triterpènes et stérols de l'espèce *Anagallis arvensis* (**01-23**). (Tableau 3 et Figure 9)

Tableau 3: Triterpènes et stérols isolés d'*Anagallis arvensis*

	Composés	Références
01	Anagalligénone B	(Heitz et al., 1971)
02	Anagalligénine B	
03	Protoaescigénine	(Amoros & Girre, 1987)
04	Camelliagénine C	(Abdel-Gawad et al., 2000)
05	Primulagénine A	(Glombitza & Kurth, 1987a)
06	23-hydroxyprimulagénine A	(Aliotta et al., 1992)
07	Acide oléanolique	(de Napoli et al., 1992)
08	Priverogénine A	(Amoros & Girre, 1987)
09	β -Amyrine	(Mahato et al., 1991)
10	Anagalligénine A	(Yamada et al., 1977)
11	Cucurbitacine R	(Yamada et al., 1978)
12	(+) -Cucurbitacine B	
13	Cucurbitacine D	
14	Cucurbitacine E	
15	Cucurbitacine I	

Tableau 3 (suite): Triterpènes et stérols isolés d'*Anagallis arvensis*

	Composés	Références
16	Cucurbitacine L	(Rastogi et Norula, 1980)
17	Stigmastérol	
18	(-) - β -Sitostérol	(Kawashty et al., 1998)
19	γ -Sitostérol	Sharma et al., 1991)
20	Avenastérol	
21	α -Spinastérol	(Ibrahim & Ghoname, 2018)
22	Testostérone	
23	Estradiol	(Saxena, et al., 2021)

**Figure 9 :** Triterpènes et stérols isolés d'*Anagallis arvensis*

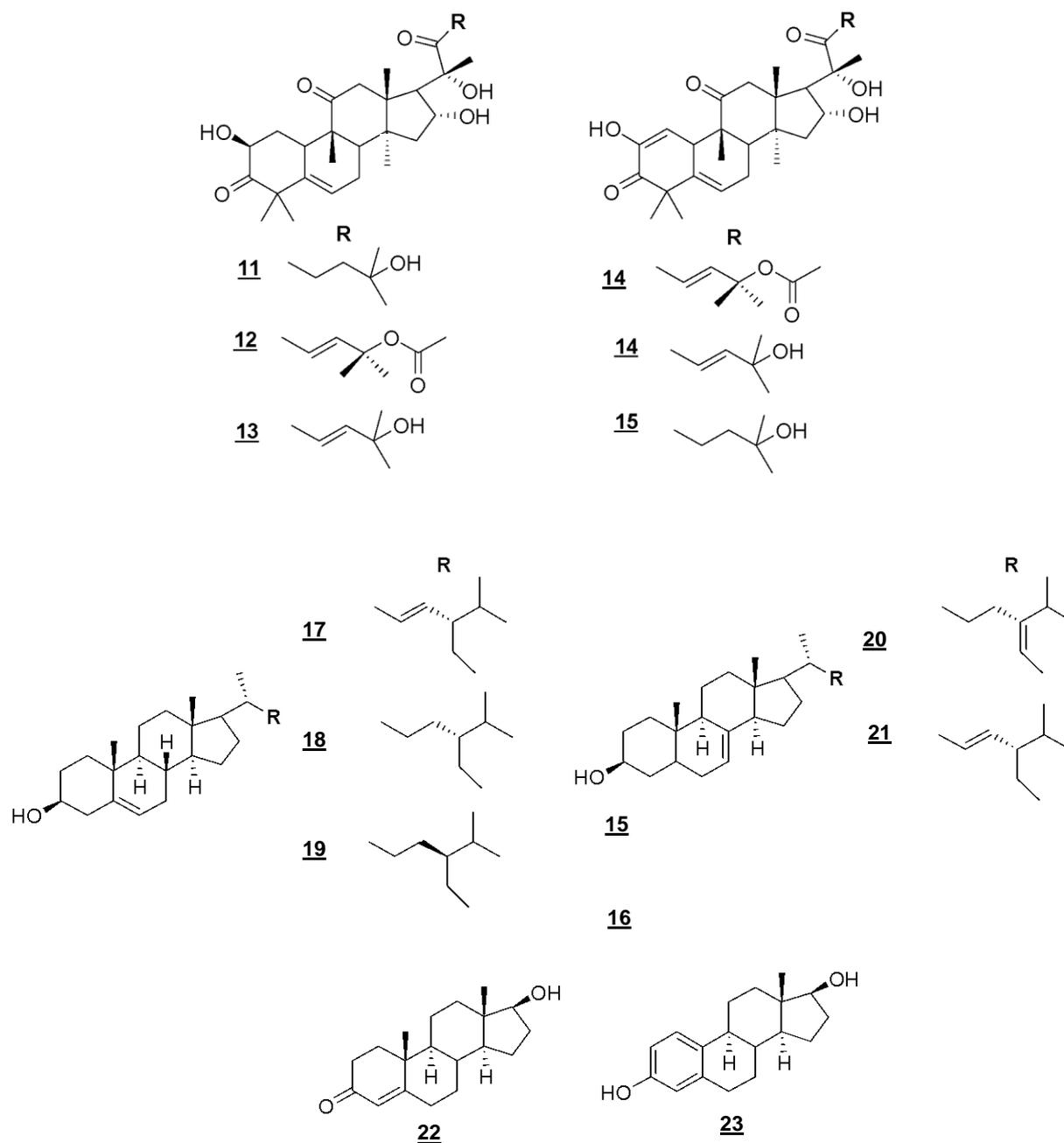


Figure 9 (suite) : Triterpènes et stérols isolés d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.2. Saponines

La saponine appartient à un groupe de produits naturels glycosylés moussant abondamment lorsqu'on les agite dans une solution hydroalcoolique.

Les saponines sont des stéroïdes ou triterpénoïdes glycosylés, nommées pour leurs propriétés savonneuses, composées d'un élément liposoluble (la génine) et d'un élément hydrosoluble (les sucres).

Des études antérieures ont permis d'isoler une vingtaine de saponines de l'espèce *Anagallis arvensis* (**24-50**) (Tableau 4 et Figure 10).

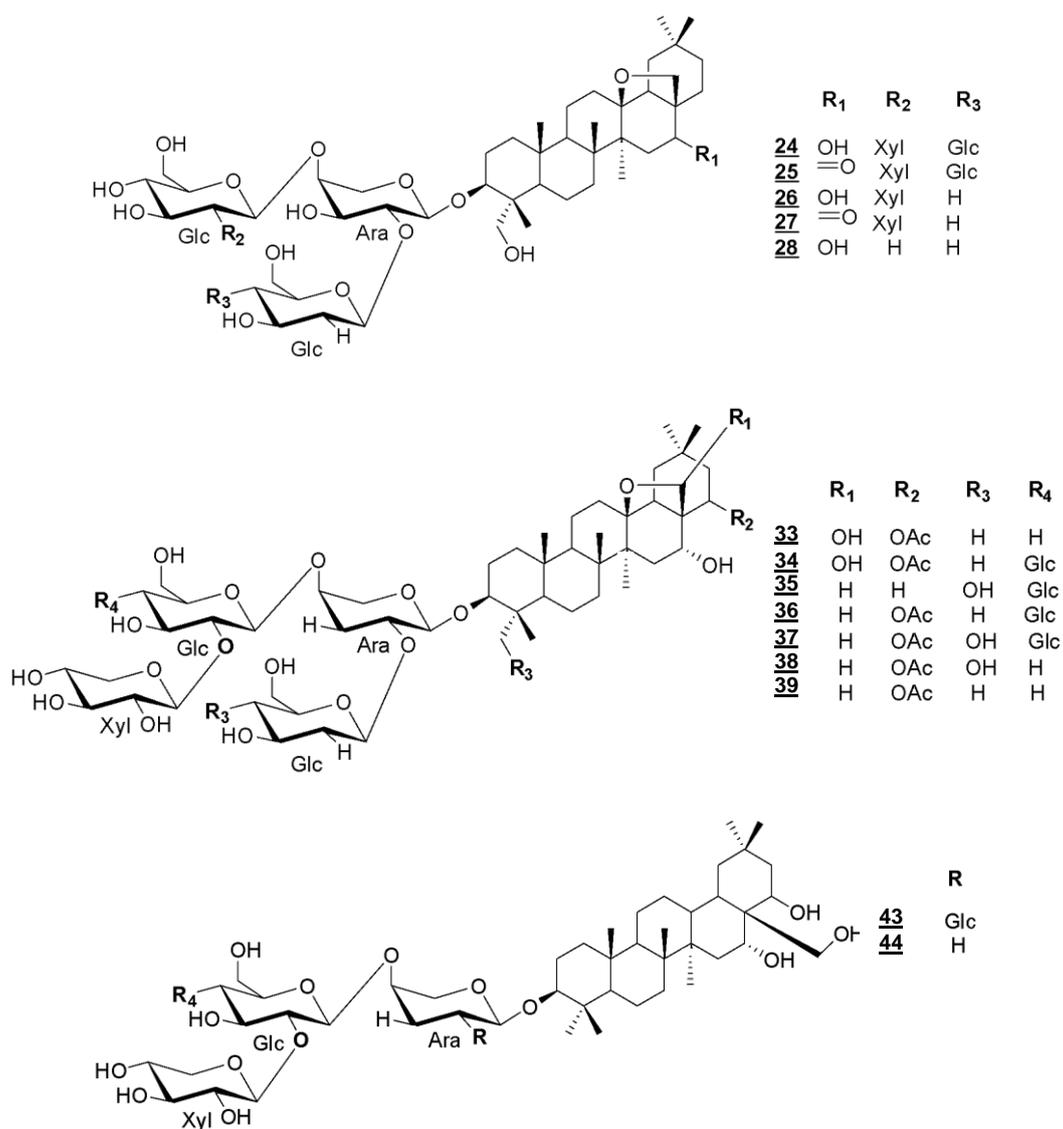
Les saponines du genre *Anagallis* se caractérisent par six génines différentes : Anagalligénine B (24-28), Anagalligénine A (29-32, 36-39 et 41-44), Primulagénine A (33,34), Priverogénine B (35,38 et 40), Hexanorcucurbitacine D (45-49), 5 α -Androst-7-en-3 β -ol (50) et avec une partie osidique composée de : glucose (Glc), arabinose (Ara) et xylose (Xyl).

Tableau 4 : Saponines d'*Anagallis arvensis*.

	Composés	Références
24	Anagallisine A	(Mahato et al., 1991)
25	Anagallisine B	
26	Anagallisine C	
27	Anagallisine D	
28	Anagallisine E	
29	Deglucoanagalloside A	(Glombitza & Kurth, 1987b)
30	Anagalloside A	
31	Anagalloside B	
32	Anagalloside C	
33	Apoanagallosaponine IV	(Shoji et al., 1994a)
34	Apoanagallosaponine III	
35	Anagallosaponine VI	
36	Anagallosaponine IX	
37	Anagallosaponine VIII	(Shoji et al., 1994a)
38	Anagallosaponine VII	
39	Anagallosaponine IV	
40	Anagallosaponine III	
41	Anagallosaponine I	(Shoji et al., 1994b)
42	Anagallosaponine II	
43	Anagallosaponine V	
44	Methylanagallosaponine I	

Tableau 4 (suite) : Saponines d'*Anagallis arvensis*.

	Composés	Références
<u>45</u>	Arvenine I	(Yamada et al., 1978)
<u>46</u>	Arvenine II	
<u>47</u>	Arvenine III	
<u>48</u>	Arvenine IV	
<u>49</u>	Arvenine I acetate	
<u>50</u>	α -Spinastéryl glucoside	(Rastogi et Norula, 1980)

**Figure 10 :** Saponines isolées d'*Anagallis arvensis*

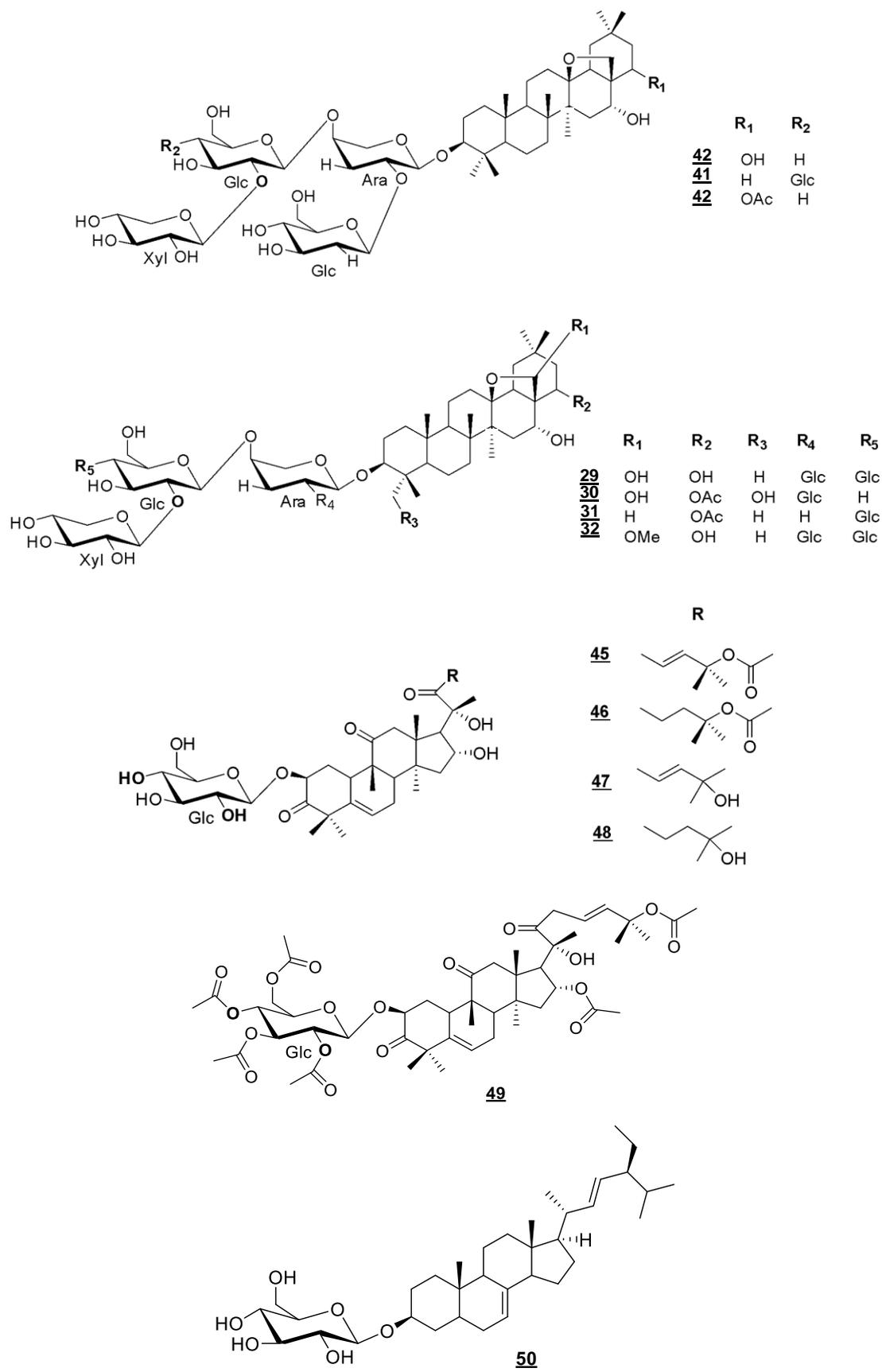
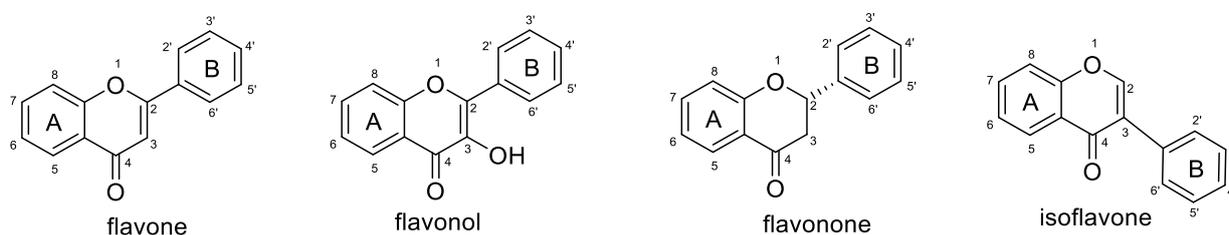


Figure 10 (suite) : Saponines isolées d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.3. Flavonoïdes

Un flavonoïde détermine un dérivé de phénylpropanoïdes par une triméthylation puis une cyclisation qui aboutissent à la formation d'une chalcone (Kawashty et al., 1998), les flavonones et les catéchines (obtenues par cyclisation complète d'une chalcone), les flavones (par oxydation d'une flavonone ou substance flavonique), les flavonols (par hydroxylation d'une flavone), les isoflavones (par déplacement du cycle latéral du C-2 au C-4 de l'hétérocycle d'une flavone) et les anthocyanes (par double réduction d'une flavonone) (Saleem et al., 2021). Les flavones, flavonols et chalcones sont jaunes, les anthocyanes rouges, bleues ou violettes.



L'étude phytochimique des parties aériennes d'*Anagallis arvensis* a conduit à la séparation de trois flavonols (51-52, 58) et huit flavonols glycosylés (53, 59-66), flavones (54-55) et deux anthocyanes (55, 56) (Figure 11).

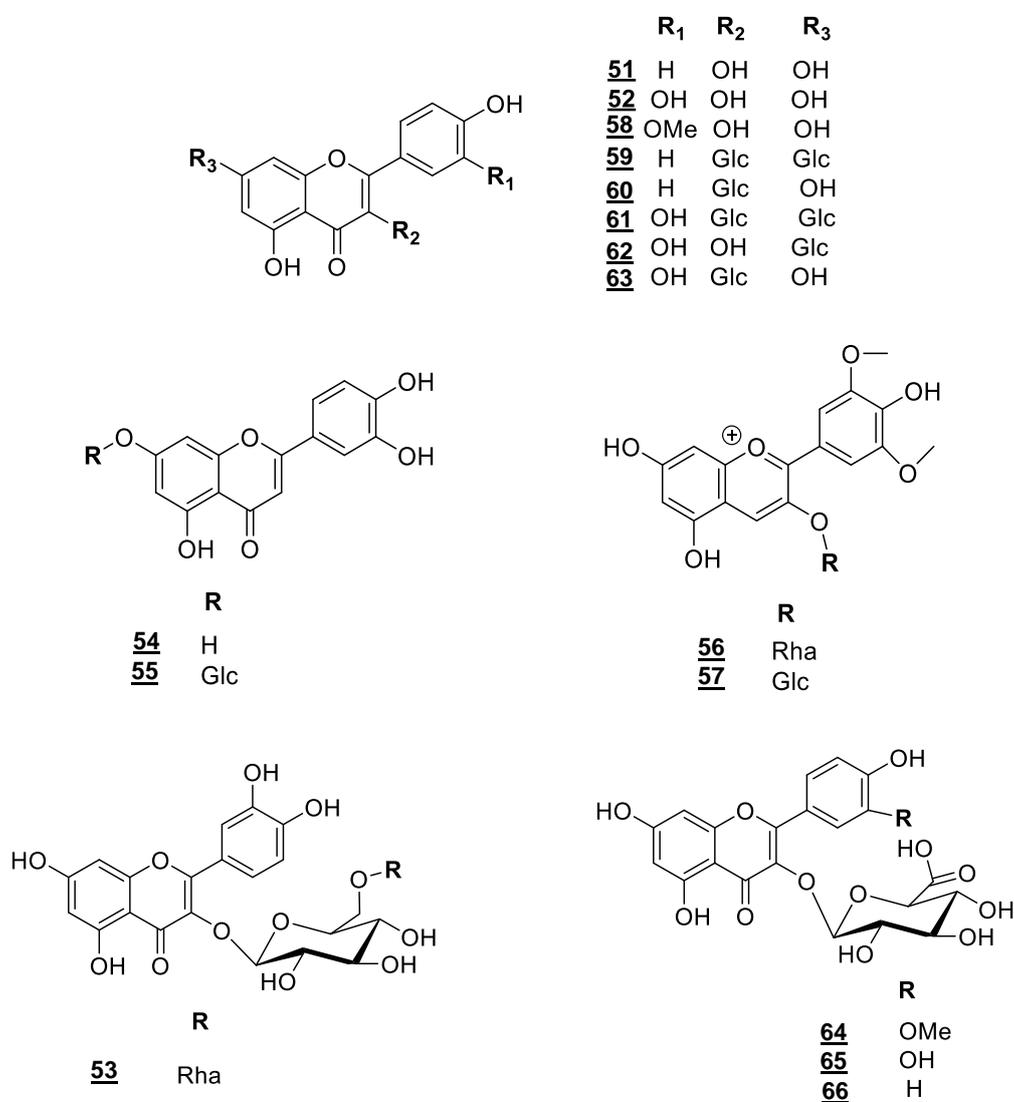
Des études antérieures ont permis d'isoler une vingtaine de flavonoïdes de l'espèce *Anagallis arvensis* (51-68) (Tableau 5).

Tableau 5 : Flavonoïdes d'*Anagallis arvensis*

	Composés	References
<u>51</u>	Kaempférol	(Rastogi et Norula, 1980)
<u>52</u>	Quercétine	
<u>53</u>	Rutine	
<u>54</u>	Lutéoline	(Ishikura, 1981)
<u>55</u>	Lutéoline 7-O-glucoside	
<u>56</u>	Malvidine 3-rhamnoside	
<u>57</u>	Malvidine 3-glucoside	(Kawashty et al., 1998)
<u>58</u>	Isorhamnétine	
<u>59</u>	Kaempférol 3,7-diglucoside	
<u>60</u>	Kaempférol 7-O-glucoside	
<u>61</u>	Quercétine 3,7-diglucoside	

Tableau 5 (suite) : Flavonoïdes d'*Anagallis arvensis*

	Composés	References
62	Quercétine 7-O-glucoside	(Kawashty et al., 1998)
63	Quercétine 3-O-glucoside	
64	Isorhamnétine 3-glucuronide	
65	Quercétine 3-O-glucuronide	
66	Kaempférol 3-O-glucuronide	
67	Catéchine	(Saleem et al., 2021)
68	Naringénine	

**Figure 11 : Flavonoïdes isolés d'*Anagallis arvensis***

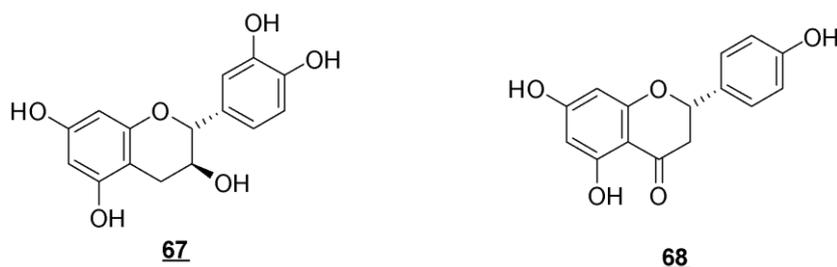


Figure 11 (suite) : Flavonoïdes isolés d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.4. Acide gras

Un acide gras est un lipide formé d'une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue comportant un groupe carboxyl (-COOH) à une extrémité et un groupe méthyl (-CH₃) à l'autre extrémité. Un acide gras est ainsi un acide organique à chaîne hydrocarbonée aliphatique à nombre pair de carbones, hydrophobe, saturée ou non, de longueur variable et généralement non ramifiée.

- Les **acides gras saturés** sont des acides gras sans doubles liaisons entre atomes de carbone, ils ont tendance à former des chaînes longues et à être solide à température ambiante, à l'exception de ceux qui possèdent des chaînes courtes.
- Les **acides gras insaturés** sont des acides gras avec des doubles liaisons entre les atomes de carbone; ils sont habituellement liquides à température ambiante. On y distingue les acides gras mono-insaturés et les acides gras polyinsaturés.

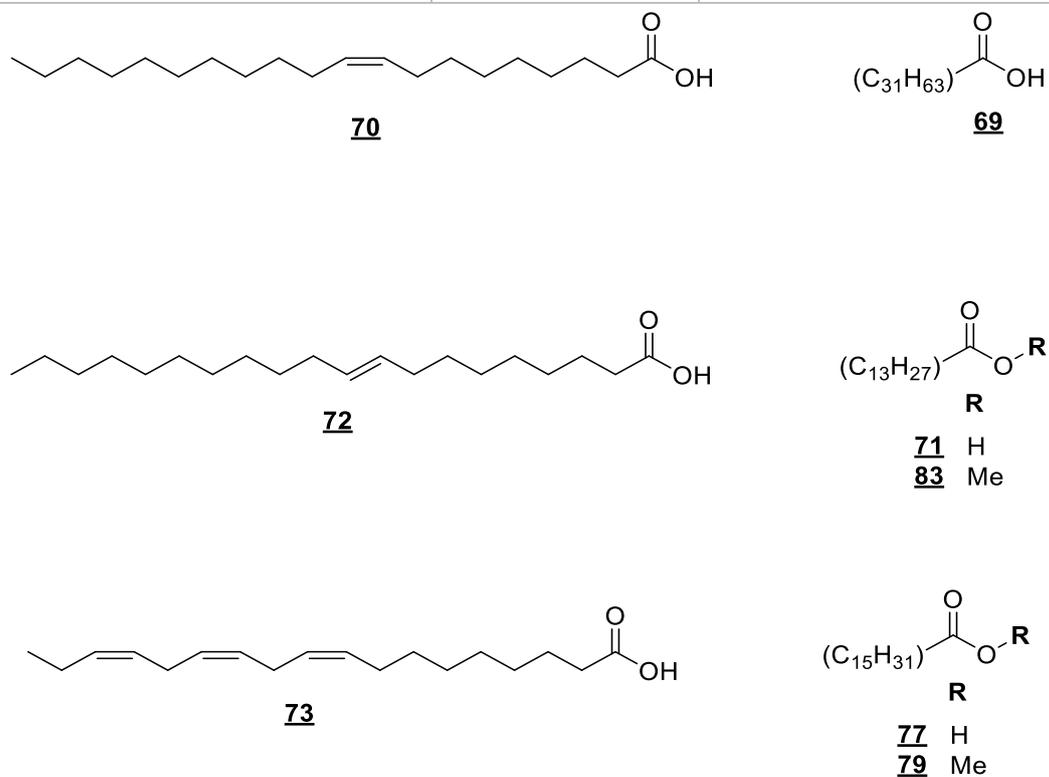
L'étude phytochimique des graines de la plante *A. arvensis* confirme la présence des composés (**69-77**) (Tableau 6) par comparaison avec des produits identiques sur la plaque CCM (la présence de monoènes, diènes et triènes), analyse IR et par clivage oxydatif pour savoir les positions des doubles liaisons (Norula et al., 1978).

Une étude récente sur l'extrait aqueux d'*A. arvensis* a révélé la présence de cinq acides gras (**79-83**) (Tableau 6 et Figure 12). La caractérisation a été réalisée par GC-MS (Saxena, et al., 2021).

Des études antérieures ont permis d'isoler une dizaine d'acide gras de l'espèce *Anagallis arvensis* (**69-83**) (Tableau 6).

Tableau 6 : Acide gras d'*Anagallis arvensis*

	Composés	Source	References
69	Acide dotriacontanoïque	<i>Anagallis arvensis</i>	(Rastogi et Norula, 1979)
70	Acide gadoléique		(Norula et al., 1978)
71	Acide myristique		
72	Acide 9-Eicosénoïque		
73	Acide linoléique		
74	Acide azeléique		
75	Acide oléique		
76	Acide linoléique		
77	Acide palmitique		
78	Acide Stéarique		(Sharma et al., 1991)
79	Palmitate de méthyle		(Saxena, et al., 2021)
80	Stéarate de méthyle		
81	Oléate de méthyle		
82	Linoléate de méthyle		
83	Myristate de méthyle		

**Figure 12 :** Structures d'acides gras d'*Anagallis arvensis*

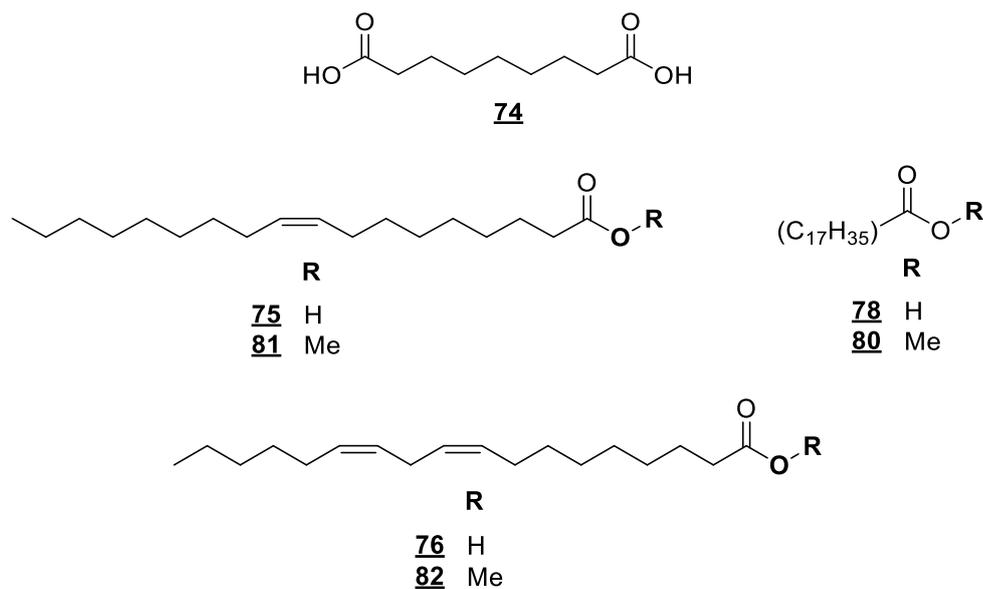


Figure 12 (suite) : Structures d'acides gras d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.5. Chlorophylle

La chlorophylle regroupe un ensemble de pigments verts liposolubles, fixés dans les chloroplastes, permettant aux végétaux autotrophes l'absorption de l'énergie lumineuse. Cet ensemble de molécules présent dans les chloroplastes est à la base des réactions photosynthétiques par assimilation chlorophyllienne. La chlorophylle a été isolée pour la première fois par Joseph Bienaimé Caventou et Pierre Joseph Pelletier en 1817. Les formules chimiques des 6 types de chlorophylles sont :

- Chlorophylle a
- Chlorophylle b
- Chlorophylle c₁
- Chlorophylle c₂
- Chlorophylle d
- Chlorophylle f

Le dépistage de la plante *Anagallis arvensis* a mis en évidence la présence des pigments photosynthétiques, Chlorophylle a $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ (**87**) et Chlorophylle b $\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$ (**88**) (Figure 13) (Khare et al., 2022).

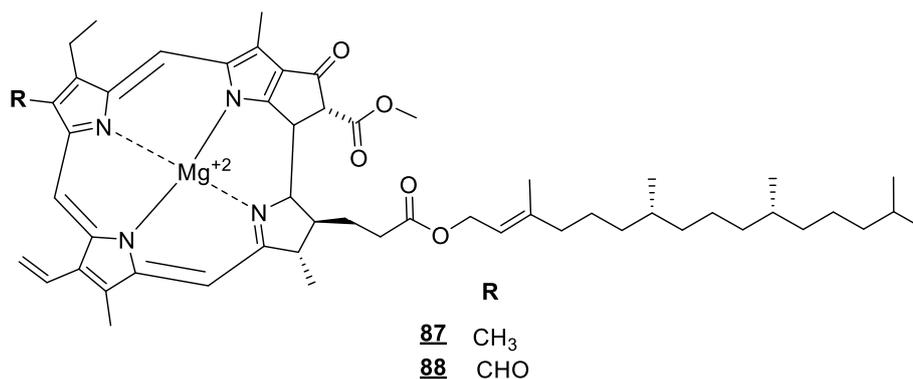


Figure 13 : Structures des Chlorophylles a et b

I.1.8.6. Acides phénoliques

Les acides phénoliques représentent environ un tiers des composés polyphénoliques (comportant plusieurs radicaux phénols) de notre alimentation et se trouvent dans tous les végétaux, mais sont particulièrement abondants dans les fruits au goût acide.

La composition phytochimique des parties aériennes et souterraines d'*Anagallis arvensis* a été établie par la quantification polyphénolique CLHP-PDA et l'analyse CLUHP-MS. La quantification polyphénolique par HPLC-PDA a révélé la présence d'importants composés, notamment l'acide gallique (**89**), l'acide chlorogénique (**90**) et l'acide férulique (**91**) (Saleem et al., 2021).

Une étude phytochimique récente indique la présence de l'acide sinapique (**92**) (Figure 14) en plus des trois acides phénoliques précédents par CLHP analytique (Saqib et al., 2021).

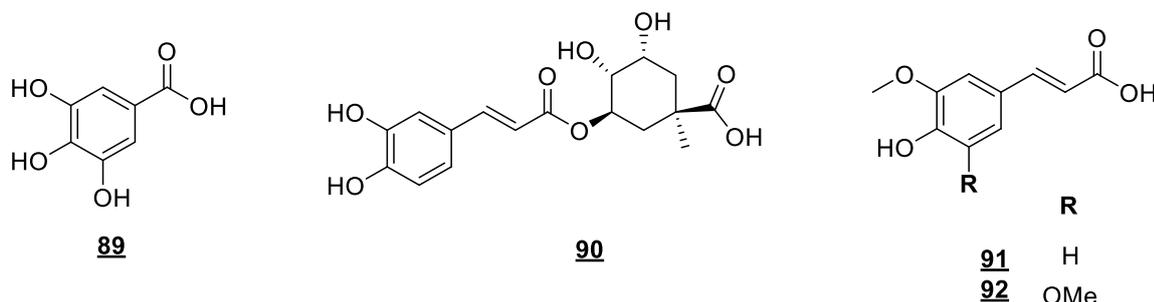


Figure 14 : Structures d'acides phénoliques d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.6. Iridoïdes

Les iridoïdes sont des noms génériques pour un vaste groupe de monoterpènes à 10 carbones cycliques oxygénés à squelette cyclopentanopyranique substitué caractéristique (squelette

iridane), majoritairement présents sous forme d'hétérosides. Par la présence d'un cycle pyranique accolé, les iridoïdes au sens strict sont des composés bicycliques dans lesquels les variations structurales concernent essentiellement des hydroxylations, des estérifications et la configuration de certains atomes (Rastogi et Norul., 1980).

Deux iridoïdes ont été identifiés par CLHP et l'analyse CLUHP -MS à partir des racines de la plante *A. arvensis*. Les composés acide géniposidique (**93**) et scandoside (**94**) (Figure 15).

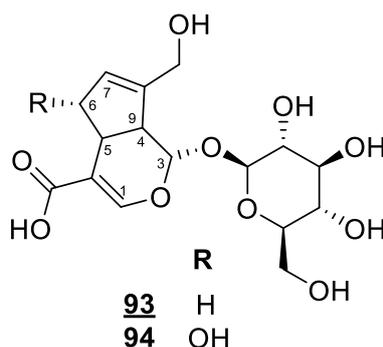


Figure 15 : Structures d'iridoïdes isolés d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.7. Alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique d'origine végétale ayant des groupes aminiques de nature à conférer un caractère basique à la structure, et ayant de grands effets pharmacologiques par rapport à l'absorption de petites doses de substance.

Les études phytochimiques portées sur *A. arvensis* ont mis en évidence la présence de l'uplandicine (**95**) (Saleem et al., 2021) et de camptothécine (**96**) (Agrawal et al., 2021) (Figure 16).

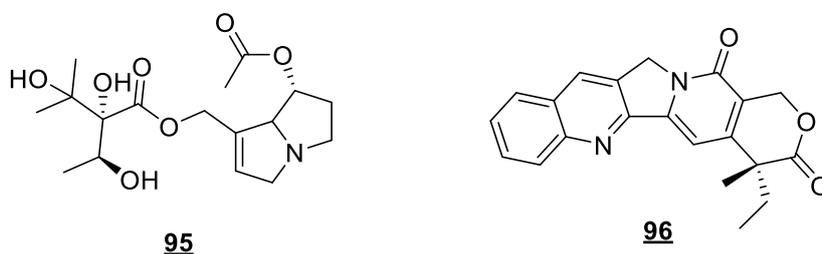


Figure 16 : Structures d'alcaloïdes isolés d'*Anagallis arvensis*

I.1.8.8. Les phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont une composante majeure du métabolisme spécialisé des plantes et contribuent à plusieurs aspects de la croissance et du développement des plantes, ainsi qu'aux

réponses aux stimuli environnementaux. Le cinnamaldéhyde ou 3-phénylpropéanal est un composé organique de la famille des phénylpropanoïdes, de formule C_9H_8O .

L'étude caractérisée du profil pharmacognostique et phytochimique de *A. arvensis*, a conduit à l'identification des composés (**98-99**) (Saxena, et al., 2021) (Figure 17).

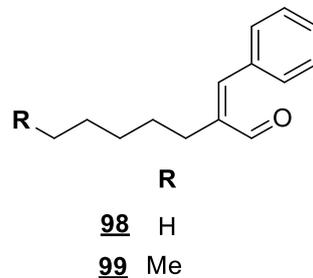


Figure 17 : Structures des phénylpropanoïdes d'*Anagallis arvensis*

I.1.9. Place dans la systématique

Royaume : *Plantae*

Sous royaume : *Tracheobiontes*

Division : *Magnoliophytes*

Classe : *Magnoliopsides*

Sous classe : *Dilleniidae*

Ordre : *Primulales*

Famille : *Primulaceae*

Genre : *Anagallis*

Espèce : *Anagallis monelli* L.

Sous espèce : *linifolia*

I.1.10. Description botanique

Anagallis monelli (Mouron de Monel ou Mouron à feuille étroites) (Figure 18) pousse dans un sol ordinaire bien drainé. Il apprécie le plein soleil, mais pour limiter son développement, on lui préfère une zone où la température ambiante ne sera pas trop élevée (Valdes et al., 1987).

-Dimensions : est une petite plante qui dépasse rarement 50 cm de hauteur, pour un étalement de 30 à 50 cm.

-Croissance : elle est rapide. Cette plante se cultive comme une plante annuelle.

-Aspect : le port général est celui d'une touffe étalée. Les tiges peuvent être rampantes ou dressées. Les feuilles, d'un coloris vert franc, mesurent 2,5 cm de longueur sur 1 cm de largeur. Leur forme est lancéolée. Des bourgeons stériles apparaissent à leur base.

-Floraison : les fleurs affichent un très beau bleu gentiane pour les formes classiques. D'autres, plus rares, sont roses ou rouges. Le coloris est rehaussé par le jaune du bouquet d'étamines, qui est bien visible. Les fleurs apparaissent à l'extrémité des tiges. Elles sont nombreuses et s'épanouissent durant toute la période estivale.



Figure 18 : la plante entière d'*Anagallis monelli* L. ssp. *linifolia* L. [3]

Chapitre 2
Aperçu bibliographique sur le genre
Arenaria L.

I.2.1. Le genre *Arenaria* Poir.

Le genre *Arenaria* est de la famille des *Caryophyllaceae*. Ce genre comporte des plantes herbacées annuelles ou vivaces, rarement bisannuelles, souvent cespiteuses. Sur la base de l'unité de phylogénie et du processus de dispersion dans les plantes. Il existe 306 espèces dans le genre *Arenaria* dans le monde, appartenant à 10 sous-genres et 24 sections. Le genre *Arenaria* est principalement distribué en Eurasie, en Amérique et en Afrique du Nord (Figure 19). Selon les éléments géographiques d'*Arenaria* dans le monde, huit modèles de distribution géographique et 11 variantes sont divisés (Zhou, 1996).



Figure 19 : Carte géographique du genre *Arenaria* [4]

Le genre *Arenaria* aime particulièrement le sable. D'ailleurs, le nom « arenar » est un nom Espagnol qui signifie littéralement « le sable », nommé aussi « Sabline » tire son nom des régions du sud et des régions montagneuses des zones tempérées et un peu chaudes du sud-France. Cette plante est une halophyte « une plante adaptée aux milieux salés ou par extension aux milieux à pression osmotique importante », peut pousser dans les sols drainés, elle préfère les terres sableuses ou elle installera sa lente croissance. Comme ce sont des plantes d'altitude, elles n'aiment pas le soleil brûlant et acceptent aussi de pousser en situation légèrement ombragée. Il ne faut donc pas les considérer comme des plantes de milieux secs brûlés par le soleil car cette situation ne leur convient pas (Véla et al., 2008).

Les caractérisations de genre *Arenaria* « la Sabline ». Plante de 6-12 cm, annuelle ou bisannuelle, formant des touffes lâches. Tige ramifiée, couverte de poils courts étalés et de poils plus longs, arqués, réfléchis. Feuilles ovales-lancéolées, 2-3 fois plus longues que larges, ciliées à la base. Sépales d'environ 4 mm, à 3-5 nervures peu marquées, glabrescents. Fleurs groupées par 2-6 (8). Pétales blancs d'environ 4 mm, à peine plus longs que le calice. Capsule à peu près aussi longue que le calice (Figure 20) (Käsermann, 1999).



Figure 20 : la plante entière de *Arenaria gothica* (Käsermann, 1999)

A ; Fleur. B ; le calice. C ; Fruit.

I.2.2. Utilisation en médecine traditionnelle du genre *Arenaria*

De nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle sont reconnues par les herboristes pour leurs propriétés thérapeutiques. Le genre *Arenaria* est considéré comme une source des molécules anti-lithiasiques et antispasmodiques (Pereira et al., 2016). *A. montana* est une plante très connue dans la médecine traditionnelle portugaise, agissant thérapeutiquement comme anti-inflammatoire et diurétique, étant principalement ingéré sous forme d'infusion, préparé à partir des feuilles, des tiges et des fleurs (De Santayana et al., 2010).

- *A. filicaulis* utilisé en médecine populaire syrienne comme diurétique, dans la vessie maladie et comme laxatif et antirhumatismal. De plus, les racines d'*A. filicaulis* sont principalement utilisées dans la fabrication d'un régime sucré populaire « Halawa-Tahinia » (Elgamal et al., 1997).

- *A. kansuensis* (nom chinois: Xue ling zhi). C'est une plante très utilisée dans la Médecine populaire chinoise, et a été utilisé avec une efficacité thérapeutique considérable dans le traitement des gripes, inflammation des poumons, jaunisse, rhumatisme et bioactivité antioxydante (Li et al., 2007 ; Xu et al., 2015).

Les plantes de genre *Arenaria* sont commercialement disponibles en deux formes, en poudre « les feuilles, les fleurs et les tiges » sous forme galénique « teinture-mère » (Figure 21).



Figure 21 : Les formes commerciales de la plante *Arenaria*

I.2.3. Quelques Activités biologiques des plantes du genre *Arenaria*

I.2.3.1. Activité antioxydante

Les résultats obtenus à partir de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques d'*A. montana* sont donnés dans le tableau 7. L'extrait aqueux a montré une activité antioxydante plus élevée que l'extrait méthanolique dans tous les essais, à l'exception de l'essai d'activité de piégeage DPPH dans lequel les deux échantillons ont montré des résultats similaires (Pereira et al., 2014).

Tableau 7 : Activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux d'*Arenaria montana*

Activé antioxydante	Extrait méthanolique	Extrait aqueux	Témoin positif
DPPH (IC ₅₀ , µg. mL ⁻¹)	0.90 ± 0.01	0.93 ± 0.02	0.04 ± 0.00
CUPRAC (A _{0.5} , mg mL ⁻¹)	0.82 ± 0.01	0.77 ± 0.02	0.03 ± 0.00
ABTS (IC ₅₀ , µg. mL ⁻¹)	6.25 ± 0.31	1.71 ± 0.02	0.003 ± 0.00
TBARS (IC ₅₀ , µg. mL ⁻¹)	0.90 ± 0.08	0.20 ± 0.02	0.004 ± 0.00

I.2.3.2. Activité cytotoxique

Les effets des extraits méthanoliques et aqueux d'*A. montana* sur la croissance de plusieurs lignées de cellules tumorales humaines (MCF-7, NCI-H460, HCT-15, HeLa et HepG2), représentés comme les concentrations qui ont causé 50% d'inhibition de la croissance cellulaire

(CI₅₀), sont également résumées dans le tableau 8. L'extrait aqueux a montré une activité contre toutes les lignées de cellules tumorales, tandis que l'extrait méthanolique n'a présenté une activité que pour les lignées cellulaires HeLa et HepG2 mais à des doses élevées. En général, il est possible de conclure que les composés bioactifs impliqués dans l'inhibition de la croissance des autres lignées cellulaires sont préférentiellement extraits dans la préparation aqueuse. Les extraits aqueux et méthanoliques ont montré une certaine hépatotoxicité, mais à des doses élevées (332,18 µg. mL⁻¹ et 350,25 µg. mL⁻¹, respectivement) (Pereira et al., 2014).

Tableau 8 : Activité cytotoxique des extraits méthanolique et aqueux d'*Arenaria montana*

Activité cytotoxique (CI ₅₀ , µg.mL ⁻¹)	Extrait méthanolique	Extrait aqueux	Témoin positif
MCF-7 (breast carcinoma)	>400	130.05 ± 8.05	0.91 ± 0.04
NCI-H460 (non-small cell lung cancer)	>400	231.08 ± 5.86	1.42 ± 0.00
HCT-15 (colon carcinoma)	>400	183.51 ± 15.54	1.91 ± 0.06
HeLa (cervical carcinoma)	329.46 ± 12.46	80.21 ± 6.29	1.14 ± 0.21
HepG2 (hepatocellular carcinoma)	308.68 ± 13.25	58.57 ± 6.59	3.22 ± 0.67
Hépatotoxique	350.25 ± 5.70	332.18 ± 3.61	2.06 ± 0.03

I.2.4. Métabolites isolés du genre *Arenaria* Poir.

I.2.4.1. Saponines

Dix-sept molécules sous forme triterpènes et stérols ont été isolées d'*A. montana*, *A. juncea*, *A. filicaulis*, *A. serpyllifolia* et *A. densissima*. Les saponines du genre *Arenaria* contiennent plusieurs génines différentes. L'acide chrinosylique (**1-2**) et cauphyllogénine (**3**), ont été identifiés dans l'espèce *A. montana* (Timité et al., 2011).

La génine gypsogénine (**4-7**) a été mise en évidence dans les deux espèces *A. filicaulis* et *A. juncea* (Gaidi et al., 2001). De plus des lupanes (**8-12**) ont été isolés dans l'espèce *A. filicaulis* (Tóth et al., 1998 ; Elgamal et al., 1998).

L'acide gypsogénique (**13**), l'acide maoléassique (**14**) et l'oléane (**15**), ont été isolés de *A. juncea* (Gaidi et al., 2005) et *A. serpyllifolia* (Zhou et al., 2013), respectivement. La seule espèce qui contient les stérols est *A. densissima* à la forme cholestane (**16**) et à la forme spinastérol (**17**) (Wu et al., 2012) (Tableau 9 et Figure 22).

Tableau 9: Saponines isolées du genre *Arenaria* (1-17).

	Composés	Source	Références
<u>1</u>	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosylechinocystic acid 28- <i>O</i> -β-D-xylopyranosyl-(1→4)[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)]-α-L-rhamnopyranosyl ester.	<i>A. montana</i>	(Timité et al., 2011)
<u>2</u>	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosylechinocystic acid 28- <i>O</i> -α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)]-α-L-rhamnopyranosyl ester.		
<u>3</u>	3- <i>O</i> -β-D glucopyranosylcaulophyllogenin 28- <i>O</i> -β-D-apiofuranosyl-(1→3)-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-[β-D-apiofuranosyl-(1→3)]-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranosyl ester		
<u>4</u>	Juncéosides A	<i>A. juncea</i>	(Gaidi et al., 2001)
<u>5</u>	Juncéosides B		
<u>6</u>	Juncéosides C		
<u>7</u>	snatzkeine F	<i>A. filicaulis</i>	(Charrouf et al., 1999)
<u>8</u>	snatzkeine E		
<u>9</u>	snatzkeine A		
<u>10</u>	snatzkeine B		
<u>11</u>	Snatzkeine C		
<u>12</u>	Snatzkeine D		
<u>13</u>	Junceosides D	<i>A. juncea</i>	(Gaidi et al., 2005)
<u>14</u>	Pedunculoside	<i>A. serpyllifolia</i>	(Zhou et al., 2013)
<u>15</u>	Prosaikogenin A		
<u>16</u>	Daucostérol	<i>A. densissima</i>	(Wu et al., 2012)
<u>17</u>	22,23-dihydrospinastérol-3- <i>O</i> -β-D-glucoside		

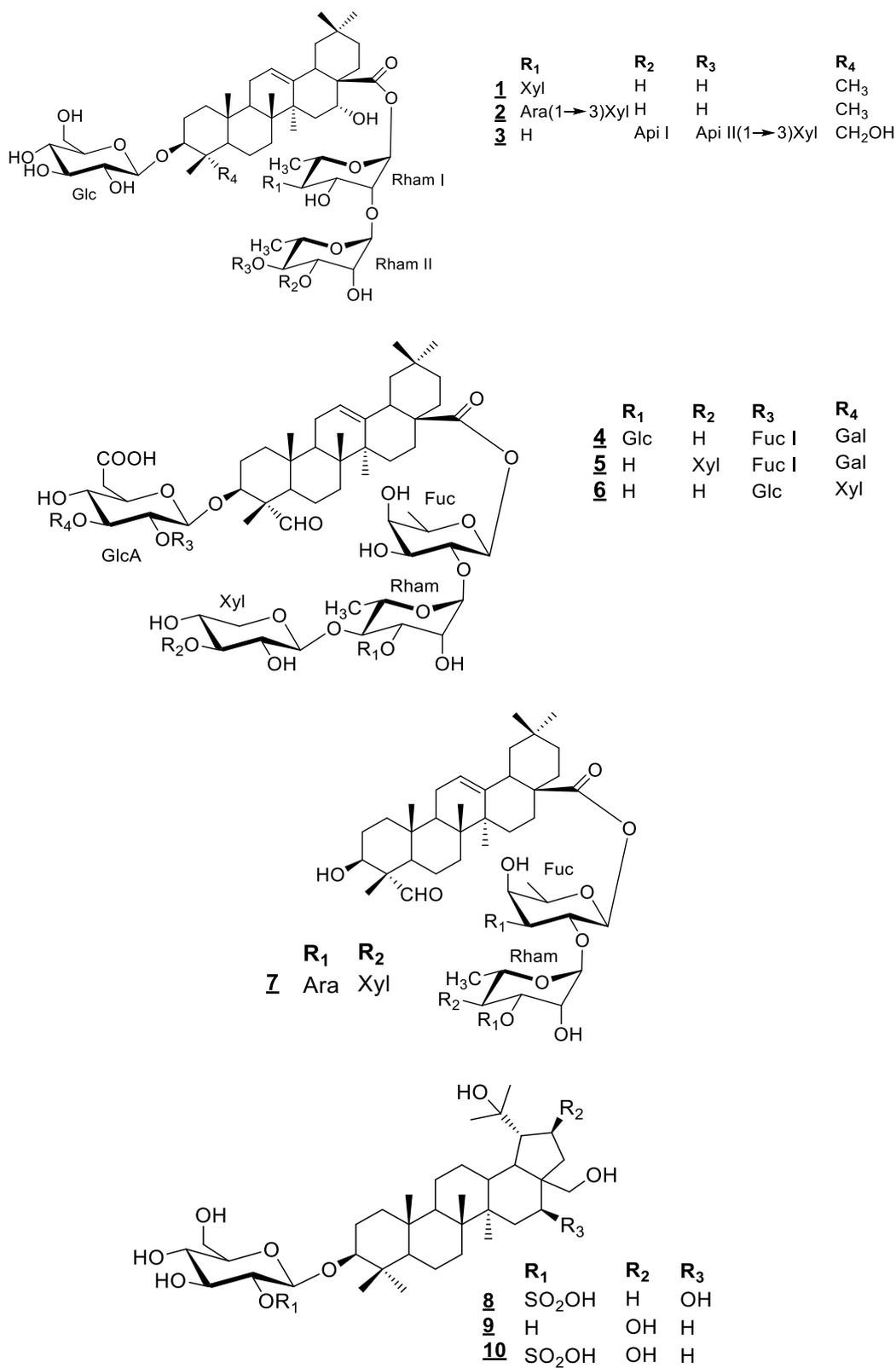


Figure 22 : Structures des saponines isolées du genre *Arenaria*

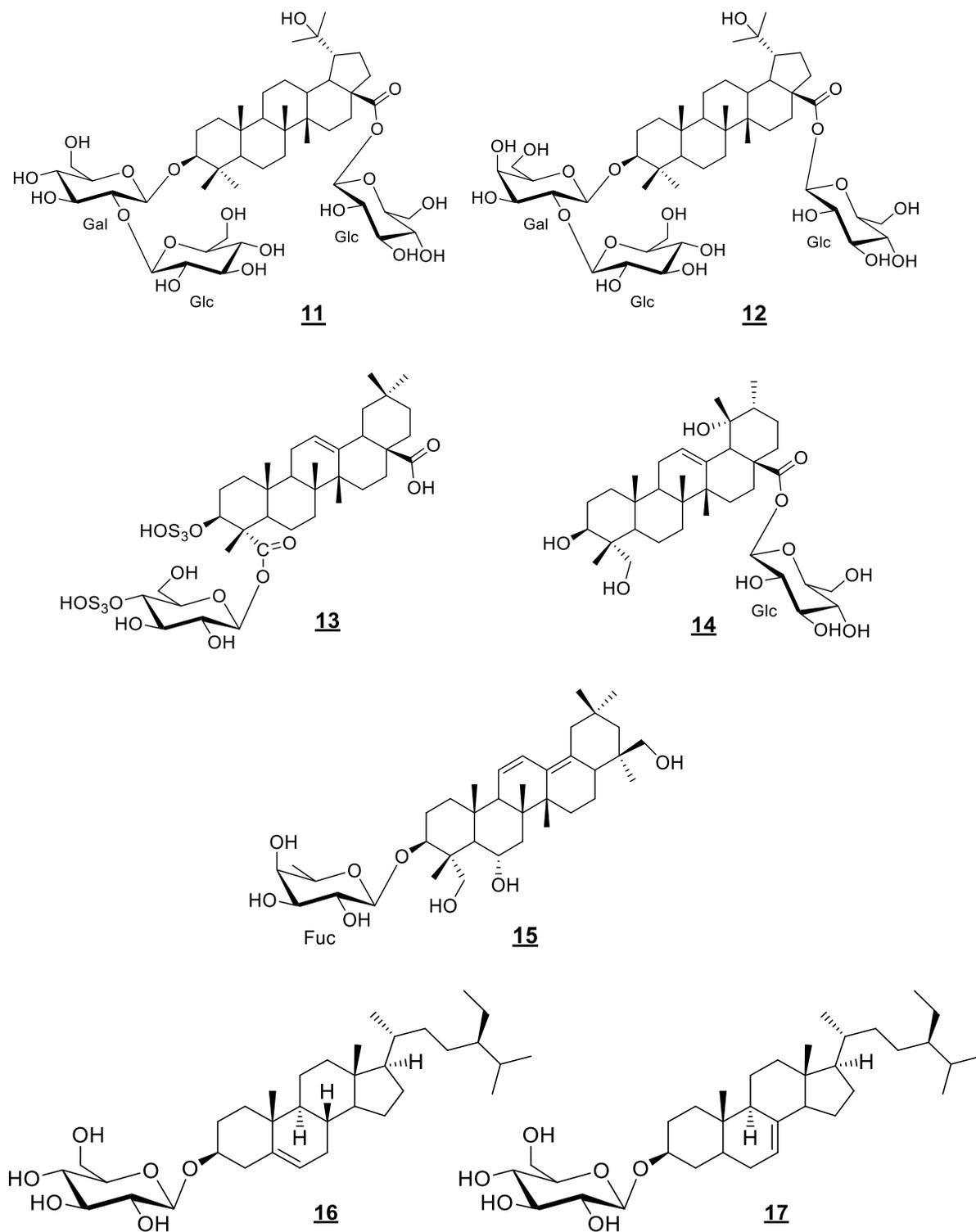


Figure 22 (suite) : Structures des saponines isolées du genre *Arenaria*

I.2.4.2. Flavonoïdes

Plusieurs flavonoïdes (**18-28**) ont été isolés du genre *Arenaria*, qui sont caractérisés par des flavones et leurs dérivés glycosylés, un flavonone (**24**) et un flavane (**27**). Les flavanoïdes ont été isolés : (**18-25**) d'*A. kansuensis* (Wu et al., 1990 ; Lei et al., 2017 ; cui et al., 2017), (**21**) de *A. oreophila* (Chang & Gong, 2005), (**27,28**) de *A. serpyllifolia* (Zhou et al., 2013) (Tableau 10 et Figure 23).

Tableau 10 : Des études antérieures ont permis d'isoler une dizaine de flavonoïdes du genre *Arenaria* (18-28).

	Composés	Source	References	
18	Tricine	<i>A. kansuensis</i>	(Wu et al., 1990)	
19	(-) - Isoscoparine			
20	(+) - Isoscoparine			
21	Tricine-7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside			(Lei et al., 2017)
22	Tricine-4'- <i>O</i> -β-guaifenesine			
23	Apigénine-6- <i>C</i> -β-D-glucopyranoside	(cui et al., 2017)		
24	Homoeriodictyol			
25	Lutéoline			
26	2, 4, 6,4'-tetrahydroxy dihydrochalcone	<i>A. oreophila</i>	(Chang & Gong, 2005)	
27	Epicatéchine	<i>A. serpyllifolia</i>	(Zhou et al., 2013)	
28	Phelodendroïde			

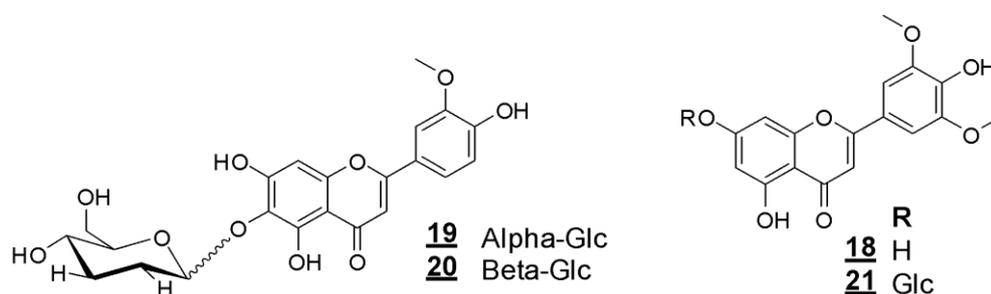


Figure 23 : Structures des flavonoïdes isolés du genre *Arenaria*

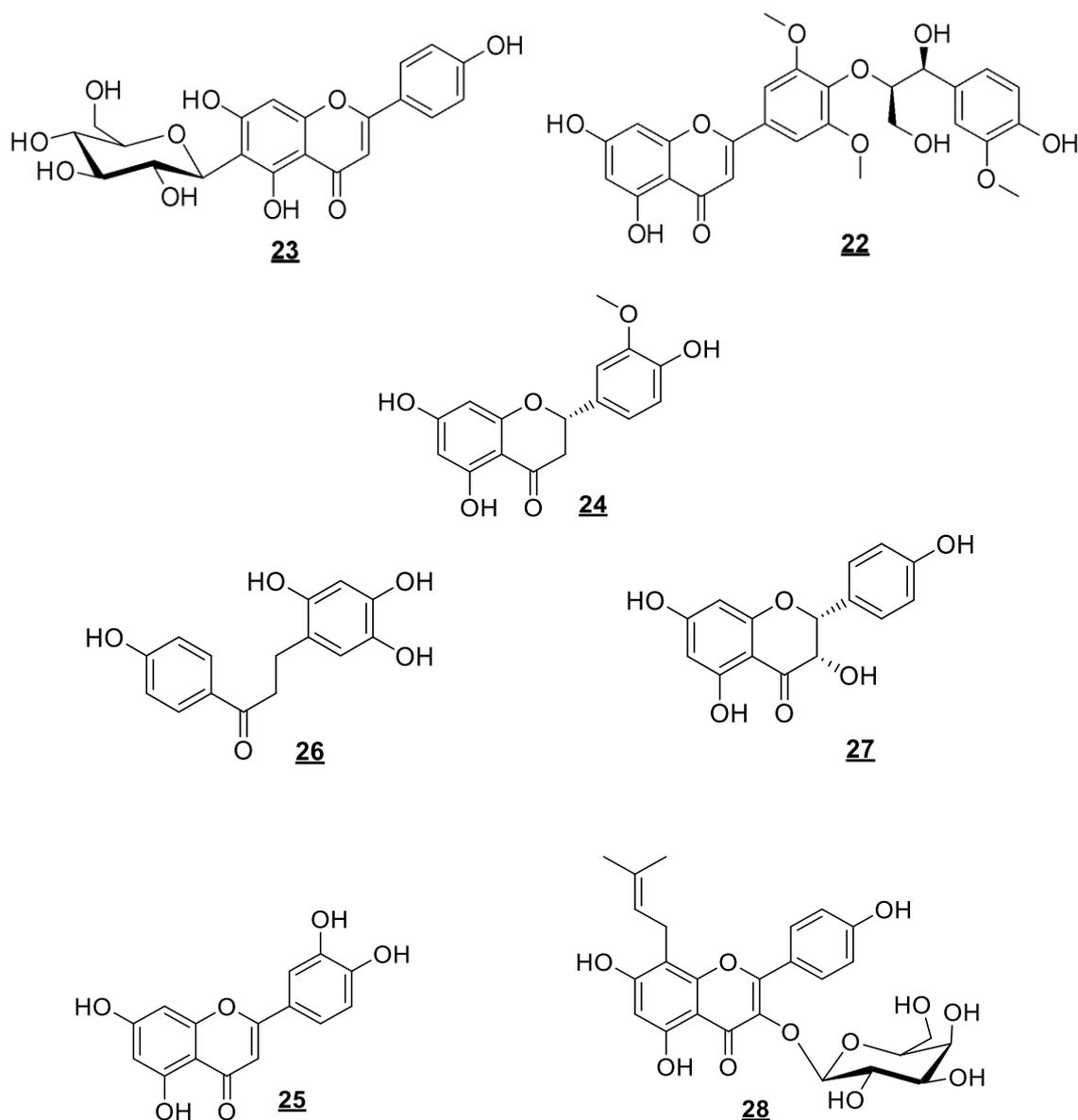


Figure 23 (suite) : Structures des flavonoïdes isolés du genre *Arenaria*

I.2.4.3. Triterpènes et Stérols

L'étude phytochimique du genre *Arenaria* a montré que la majorité des stérols identifiés de l'espèce *A. kansuensis* sont répartis en cinq types, les spinastérols (**29-30**), spinastérolone (**31**), Ergostérol (**33**) et le lanostérol (**34**) (Wu et al., 1990). Tandis que la présence du β -Sitostérol de type cholestane sous-forme glycosylé (**32**) a été observé dans l'espèce *A. kansuensis* (Wu et al., 1990) et non glycosylé (**36**) dans l'espèce *A. oreophila* (Chang & Gong, 2005). En revanche, les triterpènes de ce genre sont caractérisés par deux types de squelette, le hopane (**35**) issu d'A.

kansuensis (Wu et al., 1990), le Fernénole (**37**) et le Fernénone (**38**) issu d'*A. polytrichoides* (Wu et al., 2013) (Tableau 11 et Figure 24).

Tableau 11: Triterpènes et stérols isolés du genre *Arenaria* (28-38)

	Composés	Source	References
29	22,23-Dihydrospinastérol	<i>A. kansuensis</i>	(Wu et al., 2013)
30	22,23-Dihydrospinastérol Palmitate		
31	22,23-Dihydrospinastérone		
32	β -Sitostérol-3-O- β -D-Glucopyranoside		
33	Ergostérol-5,8-époxyde		
34	24-Méthylène-22,23-dihydrolanostérol		
35	Zeorine		
36	β -Sitostérol	<i>A. oreophila</i>	(Chang & Gong, 2005)
37	Fernénole	<i>A. polytrichoides.</i>	(Wu et al., 2013)
38	Fernénone		

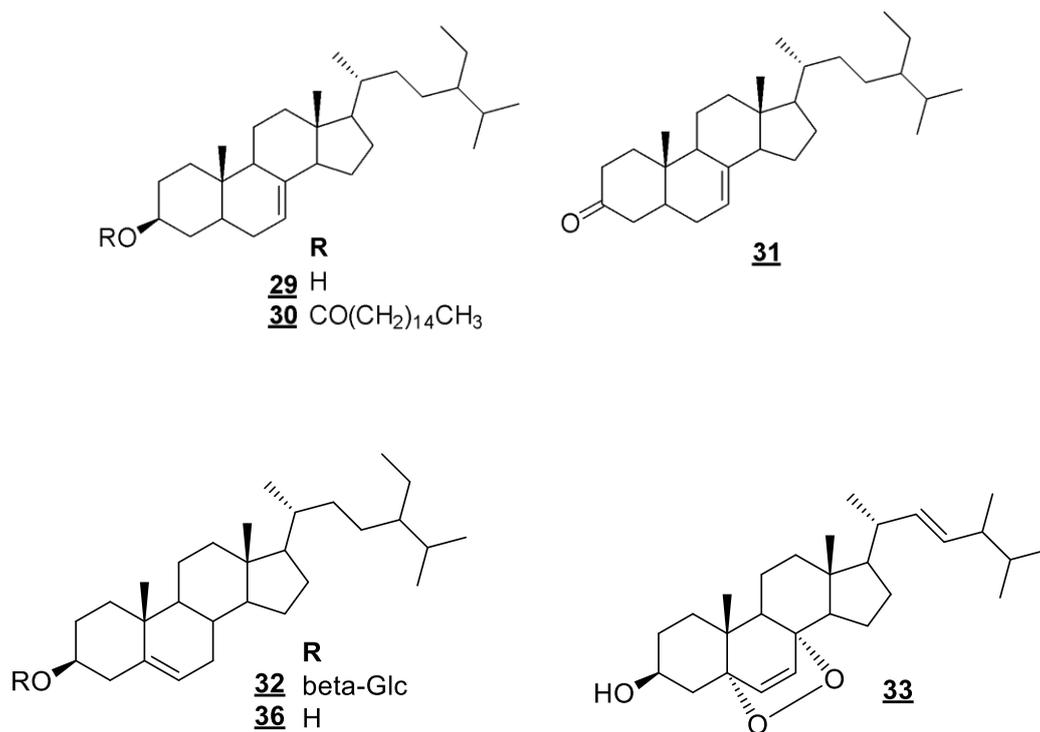


Figure 24 : Triterpènes et stérols isolés du genre *Arenaria*

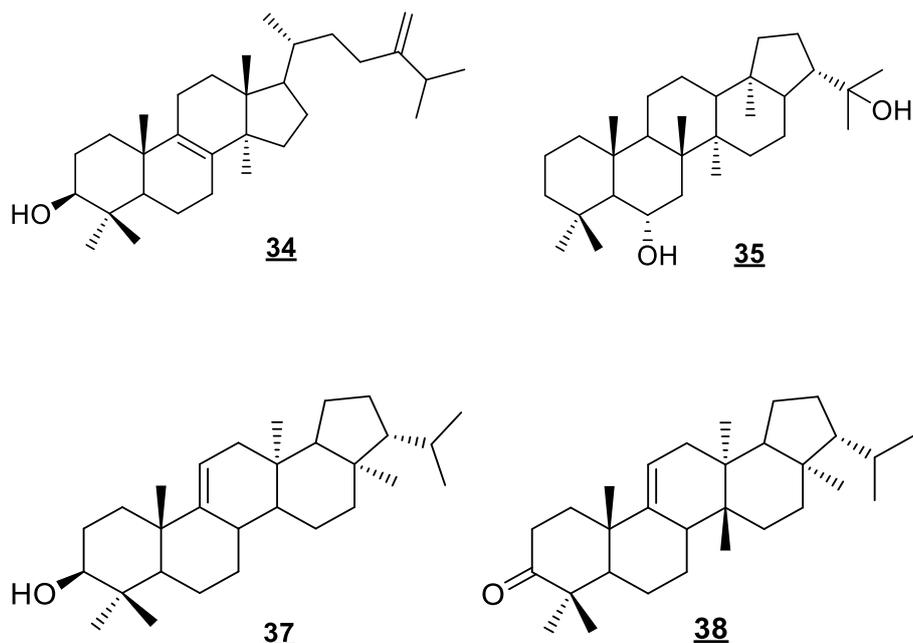


Figure 24 (suite) : Triterpènes et stérols isolés du genre *Arenaria*

I.2.4.4. Acides phénoliques

Des techniques chromatographiques sur Diaion HP-20 et de chromatographie sur colonne de gel de silice ont permis d'isoler et identifier quatre acides phénoliques par des techniques spectrales : Acide *p*-*E*-Méthoxycinnamique (**39**), 3-(4-Méthoxyphényl)-*Z*-prop-2-énoate de méthyle (**40**), Acide *p*-*Z*-Méthoxycinnamique (**41**), 3-(4-Méthoxyphényl)-*E*-prop-2-énoate de méthyle (**42**) de l'espèce *A. oreophila* (Chang & Gong, 2005) (Figure 25).

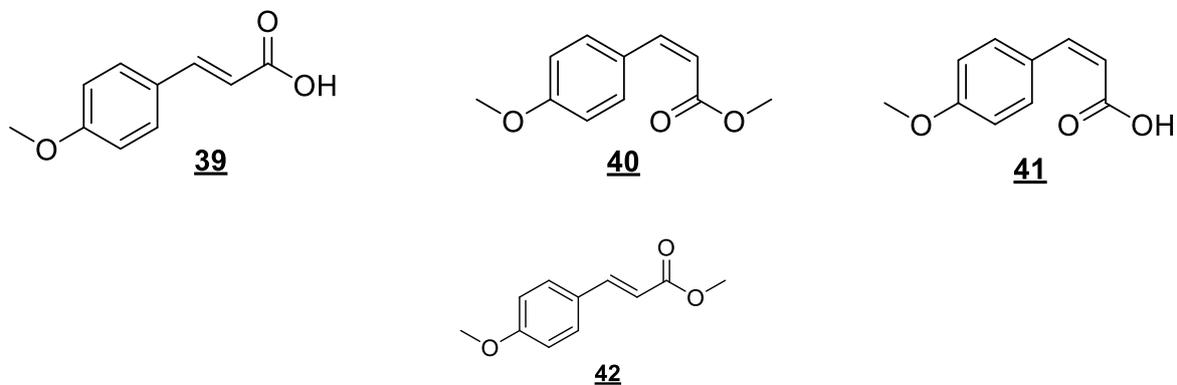


Figure 25 : Structures d'acides phénoliques isolés du genre *Arenaria*

I.2.4.5. Alcaloïdes

Des études phytochimiques antérieures sur l'*A. kansuensis* ont conduit à l'isolement d'une série de produits naturels, notamment des β -carboline (**43**), Glucodichotomine B (**44**) et Glucodichotomine AK (**45**) (Cui et al., 2017) (Figure 26).

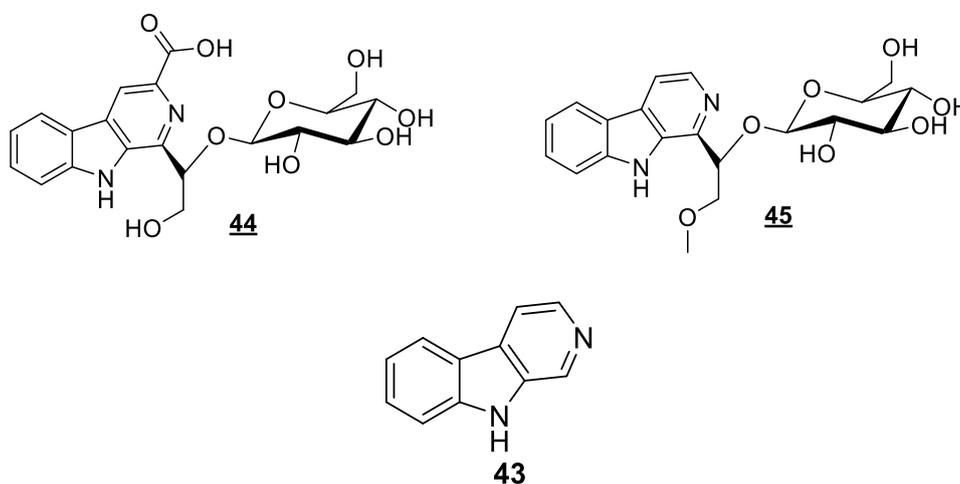


Figure 26 : Structures d'alcaloïdes isolés du genre *Arenaria*

I.2.4.5. γ -pyrones, xanthone et lignanes

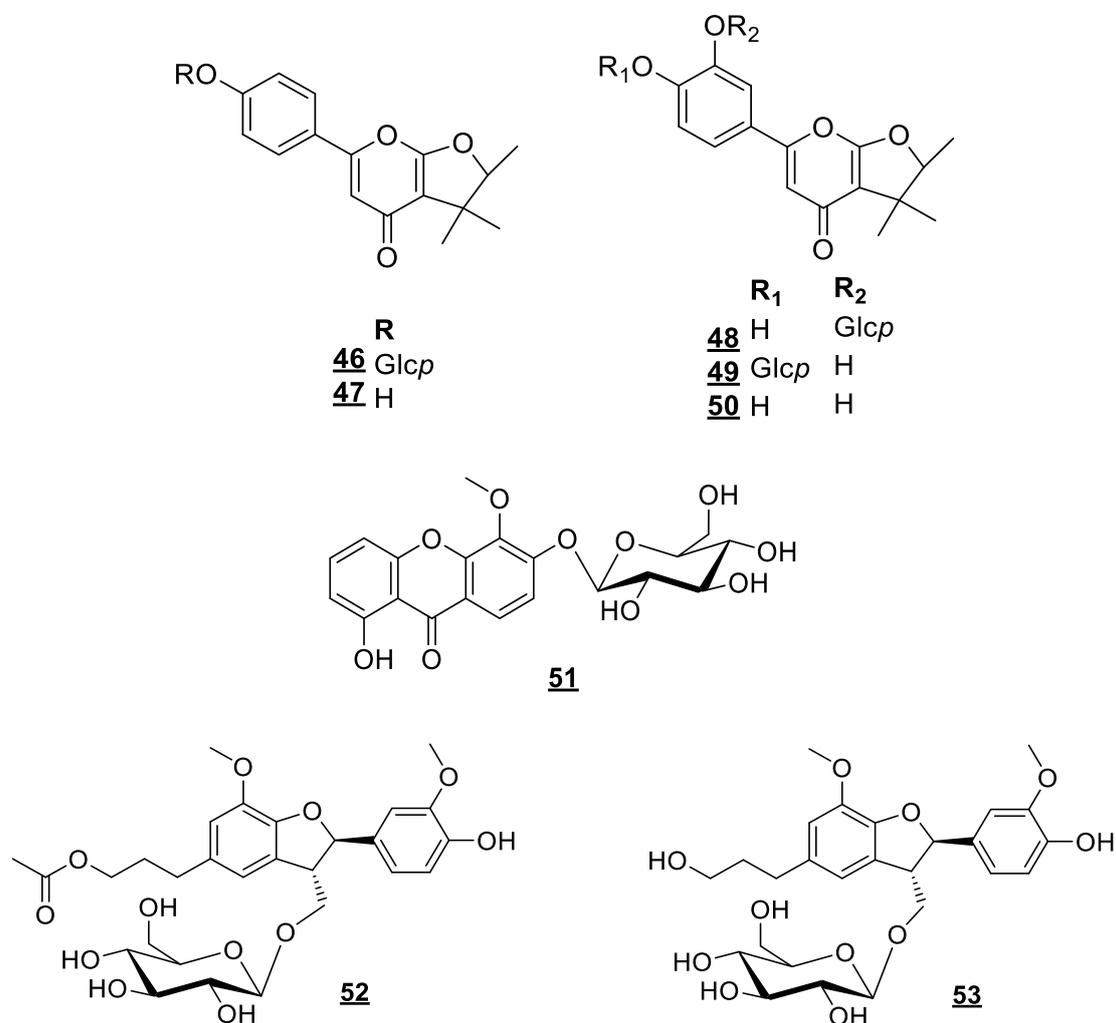
L'étude phytochimique sur *A. serpyllifolia* a permis d'élucider huit composés par des analyses spectroscopiques approfondies (UV, IR, HRESIMS, RMN 1D et 2D) dont cinq γ -pyrones, un xanthone et deux lignanes (Zhou et al., 2013) (Tableau 12 et Figure 27).

Tableau 12 : γ -pyrones, xanthone et lignanes isolés du genre *Arenaria* (46-53)

	Composés	Source	Références
	γ-pyrones	1. <i>serpyllifolia</i>	(Zhou et al., 2013)
46	Japonicumone A 4'-O- β -D-glucopyranoside		
47	Japonicumone A		
48	Japonicumone B 3'-O- β -D-glucopyranoside		
49	Japonicumone B 4'-O- β -D-glucopyranoside		
50	Japonicumone B		
	Xanthone		
51	1-Hydroxy-5-methoxyxanthone 6-O- β -D-glucopyranoside		

Tableau 12 (suite): γ -pyrones, xanthone et lignanes isolés du genre *Arenaria* (46-53)

	Composés	Source	Références
	Lignanes		
52	3-(β -D-glucopyranosyloxyméthyl)-2-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-5-(3-acétoxypropyl)-7-méthoxy- (2R,3S)-		
53	dihydrobenzofuranne. Dihydrodehydrodiconiféryyl alcool 9-O- β -glucopyranoside		

**Figure 27 :** Structures de γ -pyrones, xanthone et lignanes du genre *Arenaria*

I.2.4.6. Acides et alcools gras

L'extrait méthanolique d'*A. polytrichoides* a montré la présence d'un alcool gras Octacosanol (Wu et al., 2013). En revanche, une étude photochimique a été faite sur les extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*A. montana* qui a mis en évidence la présence de dix acides gras et sucres libres (Pereira et al., 2014) (Tableau 13 et Figure 28).

Tableau 13: Acide gras isolés du genre *Arenaria* (54-63).

	Composés	Source	References
<u>54</u>	Octacosanol	<i>A. polytrichoides</i> .	(Wu et al., 2013)
<u>55</u>	acide palmitique	<i>A. montana</i>	(Pereira et al., 2014)
<u>56</u>	acide stéarique		
<u>57</u>	acide linolique		
<u>58</u>	Acide oléique		
<u>59</u>	Acide octanoïque		
<u>60</u>	Acide caproïque		
<u>61</u>	Acide laurique		
<u>62</u>	Acide décanoïque		
<u>63</u>	Acide palmitoléique		

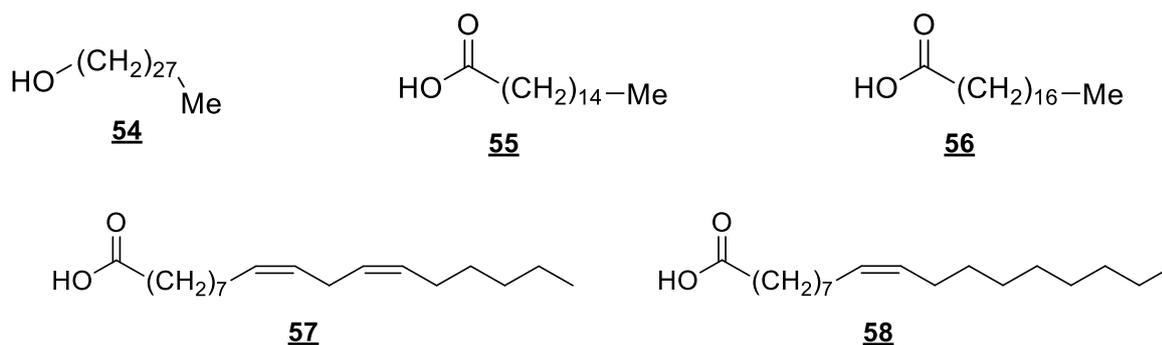


Figure 28 : Structures d'acides et d'alcool gras isolés du genre *Arenaria*

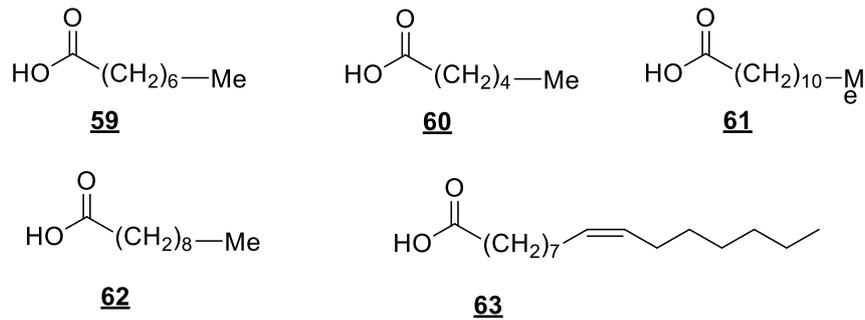


Figure 28 (suite) : Structures d'acides et d'alcool gras isolés du genre *Arenaria*

I.2.4.7. Sucres libres

L'extrait aqueux d'*A. montana* a mis en évidence la présence de trois sucres libres sucrose (64), trehalose (65) et raffinose (66) (Pereira et al., 2014) (Figure 29).

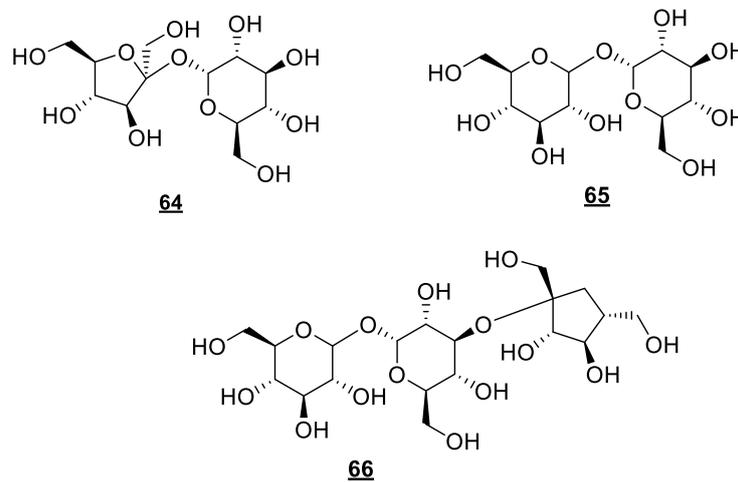


Figure 29 : Structures de sucres isolés du genre *Arenaria montana*

I.2.5. Place dans la systématique de l'espèce *Arenaria cerastioides* Poir

Royaume : *Plantae*

Sous royaume : *Tracheobiontes*

Division : *Magnoliophytes*

Classe : *Magnoliopsides*

Sous classe : *Caryophyllidae*

Ordre : *Caryophyllales*

Famille : *Caryophyllaceae*

Genre : *Arenaria*

Espèce : *Arenaria cerastioides* Poir.

I.2.6. Description botanique de l'espèce *Arenaria cerastioides* Poir

L'*Arenaria cerastioides*, également appelé Sabline (Figure 30) est une plante vivace de rocaille qui forme rapidement un large tapis qui se couvre, de mai à juillet, d'une multitude de petites fleurs blanches d'une grande fraîcheur. C'est un très bon couvre-sol persistant, rustique et facile de culture (Gallego., 1984).

Plante vivace, brièvement pubescente, d'un vert grisâtre, non glanduleuse, à souche stolonifère produisant de longs rejets stériles

- Tiges de 10-30 cm, diffuses, couchées, redressées au sommet
- Feuilles pubérulentes, lancéolées, acuminées, à 1 nervure
- Fleurs grandes, en cymes très appauvries
- Pédicelles 1-3 fois plus longs que le calice, à la fin réfléchis
- Sépales herbacés, ovales-lancéolés, à 1 nervure
- Pétales larges, obovales, 2 fois plus longs que les sépales
- Capsule ovoïde-subglobuleuse, égalant le calice, à 3 valves bidentées
- Graines tuberculeuses.



Figure 30 : la plante entière d'*Arenaria cerastioides* [4]

Partie II

Matériel et méthodes

Chapitre 1

Extraction, séparation et purification des métabolites secondaires

II.1.1. Matériel Végétal

Le matériel végétal étudié a été récolté et identifié par M. Kamel Kabouche. Un échantillon a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST). La référence (LOST.Am.05.9.19) a été attribuée pour l'espèce *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* L. et (LOST.Sc.21.3.19) pour la plante *Arenaria cerastioides*.

II.1.1.1. *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* L.

La partie aérienne de la plante *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* L. (MAIRE) a été collectée à Bouilhet, dans la wilaya d'Oum el Bouaghi, au Nord-Est de l'Algérie (latitude 35°43'53.1 "N, longitude 6°41'34.0 "E et altitude de 970 m) en mai 2019. La plante a été authentifiée par M. Kamel Kabouche. Un échantillon a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutique (LOST). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, 1000 g de matériel pulvérisé ont été obtenus.

II.1.1.2. *Arenaria cerastioides* Poir.

La plante a été récoltée au mois de Mars 2018, dans la région de El Taraf, au Nord de l'Algérie (latitude 36°33'32.1 "N, longitude 6°15'43.0 "E et altitude de 1200 m), La plante a été authentifiée par M. Kamel KABOUCHE. Un échantillon a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutique (LOST). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, 1000 g de matériel pulvérisé (parties aériennes) ont été obtenus.

II.1.2. Techniques chromatographiques

II.1.2.1. Chromatographie sur colonne flash (CCF)

La flash chromatographie est une technique de chromatographie préparative qui permet d'améliorer considérablement le débit de purification dans la chimie des produits naturels et synthétiques. Les systèmes de la flash chromatographie sont conçus pour automatiser le processus de purification, de détection de pic et la collecte des fractions. Cette technique est un remplacement révolutionnaire de la Chromatographie sur colonne classique.

L'appareil utilisé est de marque Grace[®] Reveleris[®] (Figure 31) qui est un système automatisé, muni d'un détecteur DEDL (Détecteur évaporatif à diffusion de Lumière), d'un détecteur UV/VIS, d'une vanne de purge pour la ligne DEDL (isopropanol) et d'une vanne de purge pour les 4 lignes de solvant. Le tout est piloté par le logiciel Reveleris[®] Flash System, sur lequel nous pouvons programmer un gradient et collecter directement les fractions grâce à un collecteur automatique intégré.



Figure 31 : Appareil flash chromatographie Grace[®] Reveleris[®]

II.1.2.2. La chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince, CCM est une technique qui permet de purifier et d'identifier les constituants d'un mélange. Les constituants d'un mélange homogène sont séparés par un entraînement au moyen d'un solvant (nommé éluant ou phase mobile) sur un support (nommé phase fixe ou stationnaire).

○ Phase stationnaire

- Plaques de silice en phase normale sur support aluminium (Kiesel gel 60 F254, Merck).
- Plaques de silice greffée C₁₈ en phase inverse sur support aluminium (Silicagel 60 RP-18 F254S, Merck).

○ Phase mobile

Pour la migration des composés, plusieurs systèmes constitués d'un mélange de solvants homogène, binaire, tertiaire ou quaternaire ont été utilisés selon le type de séparation et le caractère des métabolites.

- Les systèmes pour les CCM en phase normale sont :

CHCl₃-MeOH-H₂O 70-30-5

CHCl₃-MeOH 80-20

- Pour les CCM en phase inverse (RP-18), le système de séparation est le MeOH et H₂O à des différents pourcentages :

MeOH-H₂O 50%-50%

MeOH-H₂O 70%-30%

○ Révélation

Après la migration de l'éluant, la plaque est séchée par un sèche-cheveux puis observée sous lampes UV (lampe Vilber Lourmat VL-6.MC) à 254 et à 366 nm avant révélation.

Le révélateur utilisé est l'acide sulfurique 50% (H₂SO₄-96%/H₂O 50/50 v/v), la révélation a été effectuée dans une chambre de dératisation (CAMAG[®] TLC spray) suivi d'un chauffage au décapeur thermique.

II.1.2.3. Chromatographie liquide sous vide (VLC)

Chromatographie liquide sous vide (VLC, Vacuum Liquid Chromatography). Cette technique est utilisée pour obtenir un fractionnement grossier de l'extrait brut. Elle est rapide et à l'avantage de consommer moins de solvants que les méthodes chromatographiques classiques. La rapidité de cette méthode évite les phénomènes d'isomérisation observés souvent dans le cas de la chromatographie sur colonne. Elle nécessite l'utilisation d'une phase stationnaire qui est mise dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté (N°4). L'entonnoir en verre contenant un disque fritté et à travers lequel passe le solvant (la phase mobile). Ce dernier est fixé sur une fiole à vide dans laquelle les fractions sont rassemblées par application d'une pression réduite à l'aide d'une pompe à vide.

○ Phase stationnaire

- Gel de silice en phase normale (Merk, Silicagel 60 40-43µm)
- phase inverse RP-18 (Merk, Lichroprep RP-18 43-60 µm)

○ Phase mobile

- Silice en phase normale : Gradient de CHCl₃-MeOH-H₂O : (9:1:0 ; v/v), (8:2:0 ; v/v), (7:3:0 ; v/v), (7:3:0,1 ; v/v), (7:3:0,2 ; v/v), (7:3:0,5 ; v/v) et on a terminé par le MeOH 100%.
- Silice en phase inverse, RP-18 : MeOH-H₂O (70 :30 ; v/v)

II.1.2.4. Chromatographie sur résine copolymère aromatique diaion (HP-20)

Diaion[®] HP-20 est une résine copolymère non polaire styrène-divinylbenzène (DVB). Utilisée pour la séparation des métabolites secondaires dans un extrait. La résine est constituée de particules sphériques de 0,5 mm de diamètre et utilisée dans une colonne en verre (4.3 × 40cm), on a commencé par solubiliser l'extrait dans l'eau ou dans le système de départ à condition que le pourcentage de l'eau soit élevé. Après avoir déposé l'extrait sous forme liquide en tête de la

colonne on a ajouté de l'eau avec un gradient croissant de méthanol jusqu'à 100% du méthanol et on a terminé la séparation par le lavage de la colonne avec l'acétone.

II.1.2.5. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

II.1.2.5.1. CLHP analytique (HPLC)

Les analyses par CLHP ont été réalisées sur une chaîne de Dionex U3000 dotée d'une pompe LPG-3000 SD, d'un détecteur à barrettes de diodes DAD-3000, d'un échantillonneur automatique WPS-3000 (10 μ L) et d'un four TTC-3000 (Température : 30 °C). Cette chaîne est pilotée par le logiciel chromeleon® 7.2 software. Le système d'élution est constitué de deux solvants : acétonitrile ACN pour CLHP et d'eau acidifiée (0.025 % TFA) avec un débit : 1mL/min.

II.1.2.5.2. CLHP préparative (HPLC)

La CLHP préparative se compose d'une pompe Armen® AP 250/500 à haute pression qui prend la phase mobile provenant d'un réservoir à travers un injecteur ACC 250/500. Elle traverse une colonne en silice greffée Lichroprep RP-18 (12 μ m) Merck® pour la séparation des métabolites secondaires. À la fin de cette chaîne un détecteur UV Merck® K-2501 Knauer et un enregistreur papier Kipp & Zonen® BP111 (UV) permet de suivre les étapes de purification et les fractions sont collectées grâce à un collecteur Büchi C-660®.

II.1.2.5.3. CLHP semi-préparative (HPLC)

La purification des produits par CLHP semi-préparative a été effectuée par le système HPLC Dionex®, qui consiste en une pompe LPG 3400AB avec un dégazeur intégré, un Injecteur ASI-100, un détecteur UVD 340S, un collecteur AFC 3000 et un four STH 585 séparé des autres unités. Cette chaîne est également commandée par le logiciel Chromeleon® 7.2 software avec une pression maximale de 250 bars, et un débit de 1 à 6 mL/min selon la colonne utilisée.

II.1.3. Méthodes physico-chimiques

II.1.3.1. Pouvoir rotatoire

Les pouvoirs rotatoires des nouveaux composés sont mesurés à l'aide d'un polarimètre électronique Anton Par MCP 5100 à 25°C, équipé d'une lampe à sodium ($\lambda=589$ nm). En utilisant une cuve de 10 cm de long et de 1 mL de volume. Après calibrage avec le MeOH, La

rotation spécifique $[\alpha]_D$ de chaque produit exprimé en degrés est calculée à partir de 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.1.3.2. Spectrométrie de Masse (SM)

Les spectres de masse à basse résolution et à haute résolution ont été enregistrés par électrospray. Dispositif de micromasse ESI- Q-TOF haute résolution SYNAPT G2-Si de Waters, équipé d'une source d'ionisation par électro nébulisation (ESI) (Waters Corp., Manchester, UK).

II.1.3.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone (RMN ^1H et ^{13}C) ont été enregistrés sur 600 et 150 MHz (Bruker Avance III600) ou 500 et 125 MHz (Bruker Avance III500). Le logiciel Topspin 4.0.6 est utilisé pour le traitement des données spectrales. L'échantillon a été solubilisé dans un solvant deutéré (CD_3OD) dans des tubes de 5 mm de diamètre.

II.1.4. Extraction et purification

II.1.4.1. *Anagallis monelli* ssp. *Linifolia* L.

II.1.4.1.1. Macération

Le matériel végétal, séché et broyé (1 kg) a été macéré avec un mélange hydro-alcoolique : Méthanol/Eau ; (70: 30, v/v, 5x 24h). Après évaporation de la solution hydroalcoolique, on a obtenu un extrait de masse (300g).

II.1.4.1.2. Extraction liquide-liquide :

Sachant que notre extrait contient des produits moussants, on a solubélisé l'extrait brut de la plante par la phase aqueuse d'une mélange eau/ *n*-butanol dans un rapport en volume 3/1. Après filtration, la solution aqueuse obtenue a été soumise à des extractions successives de type liquide-liquide, en utilisant des solvants de polarités croissantes, l'acétate d'éthyle (AcOEt) et le *n*-butanol (*n*-BuOH). Les deux phases organiques respectives sont séparées et concentrées à sec pour nous donner les extraits suivants :

- l'extrait de l'AcOEt : 16,1 g

- l'extrait de *n*-BuOH : 71 g

Les extraits obtenus ont subi des screening et des tests de profils chromatographiques (Figure 32).



Figure 32 : Profils CCM sur gel de silice normale des fractions AcOEt-*n*-BuOH d'*Anagallis monelli* avec 2 éluants différents

II.1.4.1.3. Fractionnement par résine HP-20

L'extrait BuOH obtenu (71 g) a été soumis à une chromatographie sur colonne (CC) de Résine HP-20, en utilisant un gradient H₂O-MeOH (2L pour chaque composition) conduisant à trois fractions : A (25% MeOH, 10 g), B (50 % MeOH, 6 g) et C (100% MeOH, 41.5 g) (Figure 33).

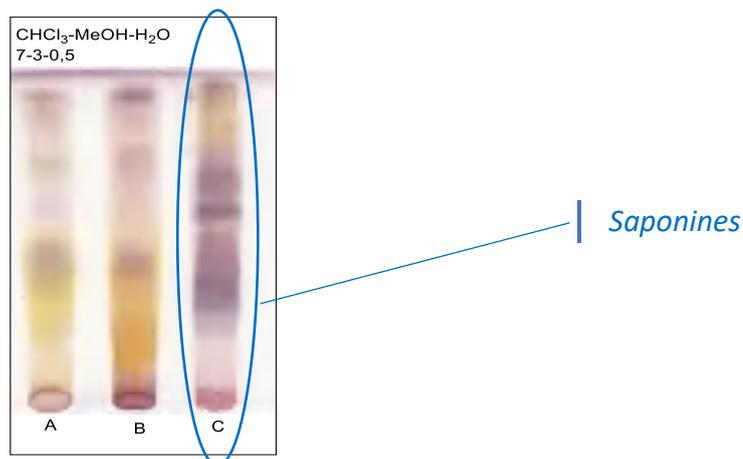


Figure 33 : Profil CCM sur gel de silice normale de l'extrait BuOH et des fractions A-C

- Nous avons choisi d'étudier la fraction C car son profil CCM a montré une richesse en métabolites secondaires.

- Avant la séparation chromatographique, nous avons fait des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice en phase normale (CCM) et des analyses sur CLHP analytique, afin de trouver les meilleures techniques et systèmes de séparation.

II.1.4.1.4. Fractionnement et purification de la fraction C (100% MeOH)

Fractionnement par Chromatographie liquide sous vide (VLC)

La fraction C (30 g) a été fractionnée par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase normal, en utilisant un gradient croissant d'un système (CHCl₃-MeOH-H₂O) jusqu'à 100% MeOH, pour obtenir 7 fractions [C₁-C₇] (Figure 34) : C₁(180 mg) : CHCl₃-MeOH (9:1 ; v/v), C₂ (1.06 g) : CHCl₃-MeOH (8:2 ; v/v), C₃ (3.35 g) : CHCl₃-MeOH (7:3 ; v/v), C₄ (5.41 g) : CHCl₃-MeOH- H₂O (7:3:0.1 ; v/v), C₅ (7.54 g) : CHCl₃-MeOH-H₂O (7:3:0.2 ; v/v), C₆ (3.96 g) : CHCl₃-MeOH- H₂O (7:3:0.5 ; v/v), C₇ (5.11 g) : 100% MeOH.

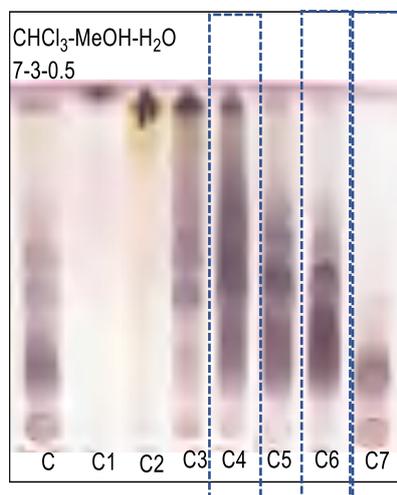


Figure 34 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale de la fraction C et les sous-fractions C₁-C₇

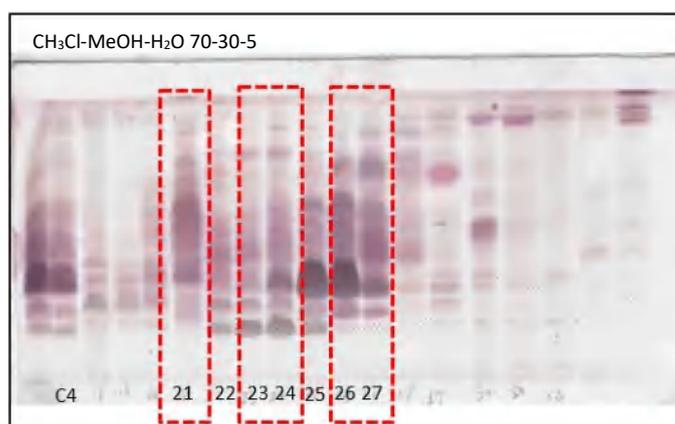
Les fractions C₄ (5,4 g), C₆ (3,9 g) et C₇ (5,1 g) ont été sélectionnées pour leur richesse en métabolites et soumises à une chromatographie flash sur RP-C18, éluée par un gradient de (20 à 60% CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1%, en 35 min), pour donner les fractions C₄₁-C₄₃₂, C₆₁-C₆₃₂ et C₇₁-C₇₃₅, respectivement.

Purification de la fraction C₄

La fraction C₄ (5.41g) a été soumise à une flash chromatographie sur RP-18, éluée par un système à gradient de 20 à 60% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1% (Figure 35), en 35 minutes pour donner 32 fractions (Tableau 14).

Tableau 14: Sous fractions obtenues par flash chromatographie de la fraction C4 (RP-18)

Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)
F1	100	F8	11.4	F15	19	F22	150	F29	19.5
F2	3.8	F9	11.1	F16	21.2	F23	226	F30	13.3
F3	10.1	F10	15.5	F17	34.5	F24	175	F31	9.2
F4	7.3	F11	20.8	F18	50	F25	580	F32	5.8
F5	16.7	F12	6.8	F19	128	F26	385		
F6	15	F13	18.4	F20	304	F27	147.5		
F7	31	F14	8.2	F21	1100	F28	26.3		

**Figure 35 :** Profil CCM sur gel de silice en phase normale des sous-fractions de la fraction C4

Les sous-fractions 21,22-24 et 26-27 ont été choisies pour les séparations chromatographiques en raison de leur masse importante et leurs riches en métabolites.

- Etude de la sous-fraction F21

Une flash chromatographie sur silice en phase normale a été utilisée pour le fractionnement de la fraction **F21 (1.1 g)**, éluée avec un gradient de CHCl₃-MeOH-H₂O (8:2:0 à 7:3:2, pendant 45 min) (Figure 36), 14 sous-fractions sont obtenues (Tableau 15).

Tableau 15: Sous-fractions obtenues par flash chromatographie de la sous fraction F21 de C4 (phase normale).

Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)
F1	5.6	F5	85.4	F9	53.4	F13	3.9
F2	4.3	F6	152	F10	31.2	F14	6.4
F3	16.0	F7	63.2	F11	11.5		
F4	40.3	F8	70.5	F12	4.1		

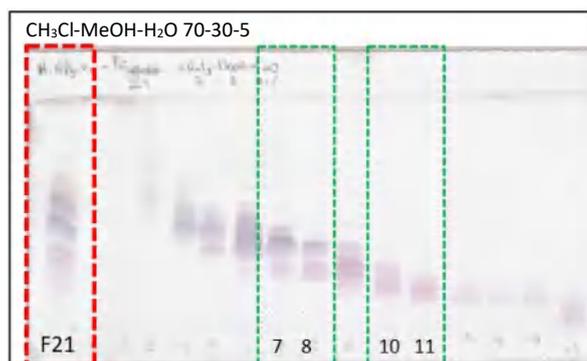


Figure 36 : Profil des sous fractions obtenues par flash chromatographie de la fraction **F21** de **C₄** (gel de silice phase normale)

Les fractions **F7** et **F8** ont été regroupées en raison de la similitude de leur profil CCM. Leurs composés ont été séparés par Flash chromatographie en phase inverse suivi d'une purification par CLHP semi préparative. De même pour les fractions **F10** et **F11** qui ont été regroupées et subies directement une purification par CLHP préparative.

La fraction **F7-8** (130 mg) a été soumise à une flash chromatographie sur RP-18, éluée par un système de gradient de 25 à 60% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1% (Figure 37), en 35 minutes pour donner le composé **Am 1** (32,4 mg, t_R 7.33 min) et 4 autres fractions **F7-8-f1 - F7-8-f5**.

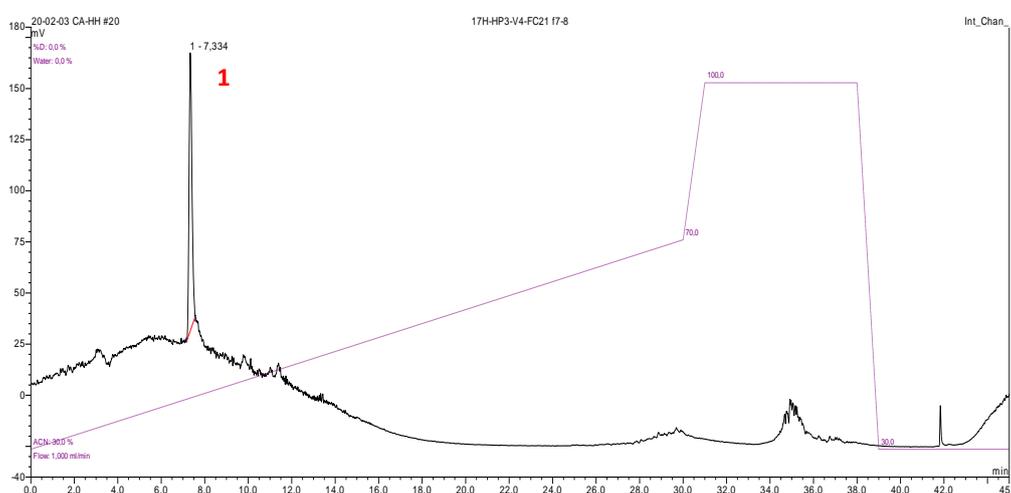


Figure 37 : Chromatogramme CLHP analytique de la fraction **F7-8** (gel de silice RP-18)

La fraction **F7-8-f4** a été purifiée par HPLC semi-préparative, en utilisant un gradient de 30% à 70% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1% pendant 30 minutes (Figure 38), pour donner **Am 11** (2.5 mg, t_R 15.8 min), **Am 5** (5.3 mg, t_R 17.1 min) et **Am 7** (1.1 mg, t_R 26.1 min).

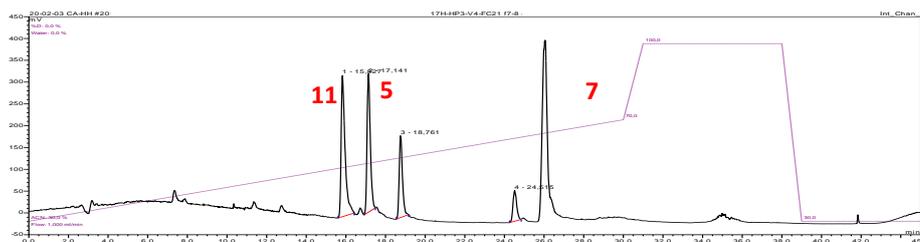


Figure 38 : Chromatogramme CLHP de la fraction **F7-8-f4** (gel de silice **RP-18**)

La fraction **F10-11** (42.5 mg) a été purifiée par HPLC préparative, en utilisant un gradient de 30% à 50% de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{acide trifluoroacétique } 0.1\%$ pendant 60 minutes, pour donner **Am 6** (1.5 mg), **Am 2** (2.7 mg) et **Am 21** (1.3 mg) (Figure 39).

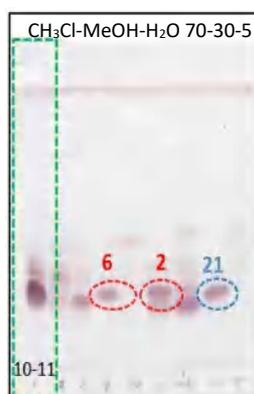


Figure 39 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale de la fraction **F10-11**

- Etude de la sous-fraction **F22-24**

Une flash chromatographie sur silice normale a été utilisée pour le fractionnement de la fraction **F22-24** (551 mg), avec un système de gradient de $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (8:2:0 → 7:3:2, en 45 min) (Figure 40), pour l'obtention de 16 sous-fractions (Tableau 16).

Tableau 16: Flash chromatographie de la fraction **F22-24** sur colonne de gel de silice en phase normale.

Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)
F1	7.5	F5	58.6	F9	37	F13	4.8
F2	21.3	F6	48.4	F10	29.7	F14	10.9
F3	70.5	F7	53.6	F11	15.6	F15	2.7
F4	60.4	F8	35.5	F12	11.2	F16	2.3

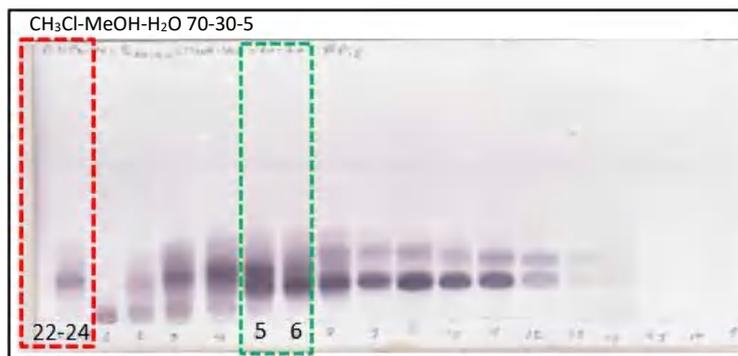


Figure 40 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale des sous fractions issues de la fraction **F22-24**

La fraction **F5-6** (100.2 mg) a été purifiée par CLHP préparative, en utilisant un gradient de 30% à 70% de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{acide trifluoroacétique}$ 0.1% pendant 30 minutes, pour donner **Am 8** (1.4 mg), **Am 19** (1.5mg) et **Am 18** (10.2 mg), **Am 20** (2.8 mg) et **Am 23** (2.4mg) (Figure 41).

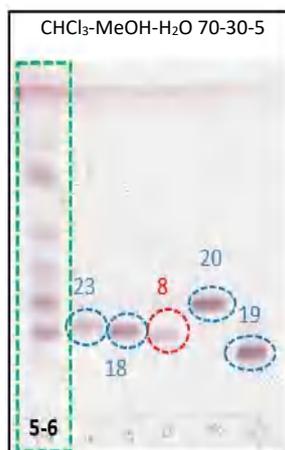


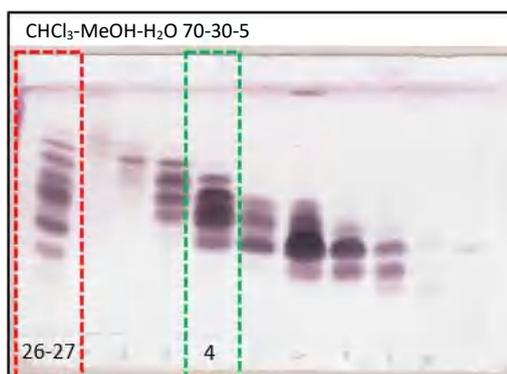
Figure 41 : Plaque CCM sur gel de silice en phase normale des produits purs issus de la fraction **F5-6**

- Etude de la sous-fraction **F26-27**

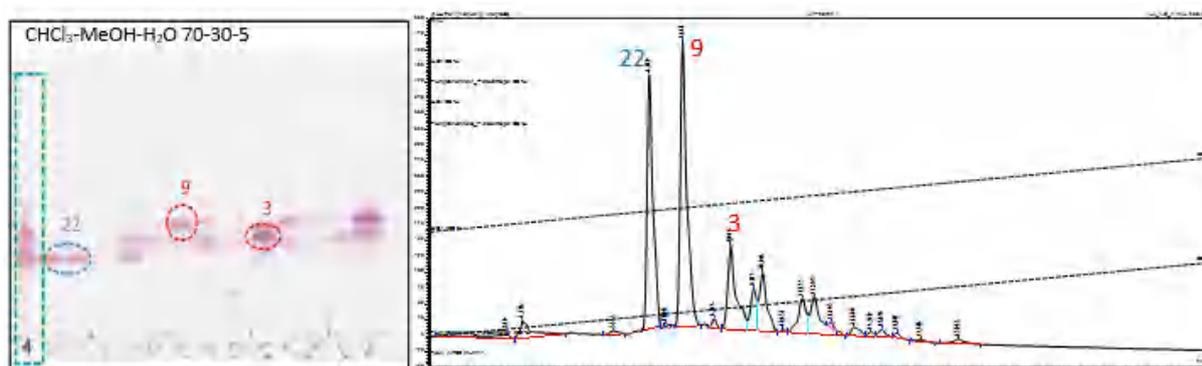
Une flash chromatographie sur silice en phase normale a été utilisée pour le fractionnement de la fraction **F26-27** (532.5 mg), avec un système gradient de $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (8:2:0 → 7:3:2, en 45 min) (Figure 42), pour l'obtention de 10 sous-fractions (Tableau 17).

Tableau 17: Sous-fractions obtenues par flash chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale de la fraction F26-27.

Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)						
F1	4.4	F3	38.7	F5	15.7	F7	29.3	F9	6.2
F2	6	F4	100.7	F6	122.3	F8	16.3	F10	7.4

**Figure 42 :** Profil CCM sur gel de silice en phase normale des fractions issues de la fraction **F26-27**

La fraction **F4** (100.2 mg) a été purifiée par HPLC semi-préparative, en utilisant un gradient de 20% à 80% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1% pendant 45 minutes (Figure 43), pour donner **Am 3** (2.2 mg, t_R 12.8 min), **Am 9** (1.5mg, t_R 11.8 min) et **Am 22** (2.4 mg, t_R 8.1 min).

**Figure 43 :** Profil CCM sur gel de silice en phase normale des fractions de **F4** et chromatographe CLHP semi-préparative de la fraction **F4**

Purification de la fraction C₆

La fraction C₆ (3.9 g) a été soumise à une flash chromatographie sur RP-18, éluée par un système à gradient de 20 à 60% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1%, en 35 minutes (Figure 44), pour donner 32 fractions (Tableau 18).

Tableau 18 : Sous-fractions obtenues par flash chromatographie de la fraction C₆

Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)
F1	10.5	F8	3.8	F15	404.2	F22	322.5	F29	3.7
F2	27.5	F9	3.7	F16	207.5	F23	413.4	F30	13.3
F3	9.2	F10	8.8	F17	208.5	F24	322.8	F31	2.5
F4	4.7	F11	13.4	F18	143.6	F25	103.2	F32	1.6
F5	26.7	F12	18.4	F19	136	F26	8.2		
F6	19.2	F13	141.5	F20	61.7	F27	1.8		
F7	10.6	F14	115.0	F21	77.3	F28	3.6		



Figure 44 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale des sous-fractions de la fraction C₆

- Etude de la sous-fraction F14 et F16

La fraction **F14** (115 mg) a été purifiée par HPLC préparative, en utilisant un système à gradient de 20% à 30% de CH₃CN pendant 30 minutes (Figure 45), pour donner **Am 4** (3.0 mg), **Am 16** (1.2 mg) et **Am 17** (1.4 mg)

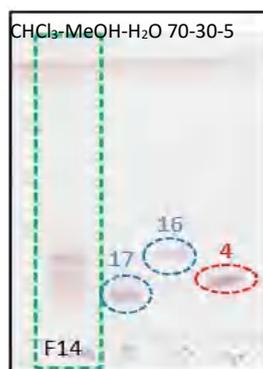


Figure 45 : Plaque CCM sur gel de silice des produits purs issus de la fraction **F14**

La fraction **F16** (207.5 mg) a été purifiée par HPLC semi-préparative, en utilisant la colonne RP-18 avec un système de gradient de 20% à 80% de CH₃CN pendant 45 minutes (Figure 46), pour donner **Am 10** (1.4 mg, t_R 17.6 min), **Am 12** (1.0 mg, t_R 18.1 min) et **Am 13** (1.5 mg, t_R 19.4 min)

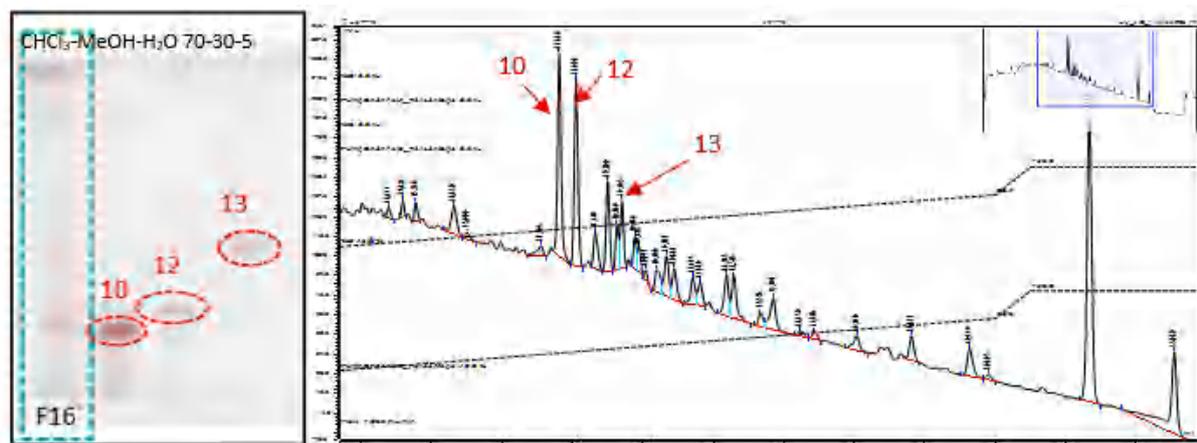


Figure 46 : Plaque CCM sur gel de silice en phase normale des produits purs issus de **F16** et chromatogramme de CLHP semi-préparative de la fraction **F16**

Purification de la fraction **C7**

La fraction **C7** (5.19 g) a été soumise à une flash chromatographie sur RP-18, éluée par un système de gradient de 20 à 60% de CH₃CN, en 35 minutes (Figure 47), pour donner 33 fractions (Tableau 19).

Tableau 19 : Flash chromatographie de la fraction **C7** sur colonne RP-18.

Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)	Fraction	Masse (mg)
F1	13.1	F8	33.6	F15	216.3	F22	66.4	F29	8.9
F2	156.2	F9	46.3	F16	416.4	F23	55.3	F30	6.1
F3	63.2	F10	24.5	F17	590.9	F24	12.2	F31	47.2
F4	70.1	F11	23	F18	445.1	F25	13.5	F32	13.4
F5	51.4	F12	83.1	F19	750.9	F26	9.7	F33	11.6
F6	46.3	F13	32.6	F20	882.1	F27	12.2		
F7	49.2	F14	43	F21	461.5	F28	8.5		

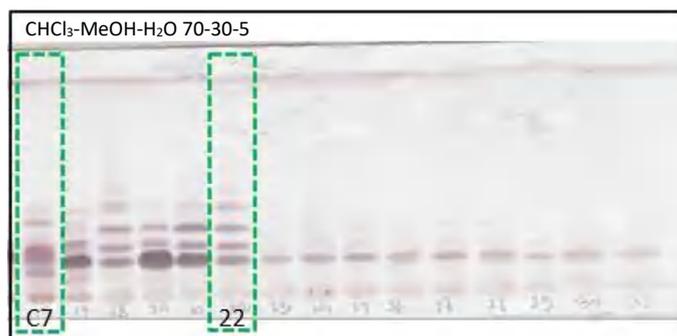


Figure 47 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale des sous-fractions de la fraction C7

- Etude de la sous-fraction F22

La fraction F22 (66.4 mg) a été purifiée par HPLC préparative, en utilisant un système de gradient de 20% à 30% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1% pendant 30 minutes, pour donner Am 14 (1.9 mg) et Am 15 (1.8 mg) (Figure 48).

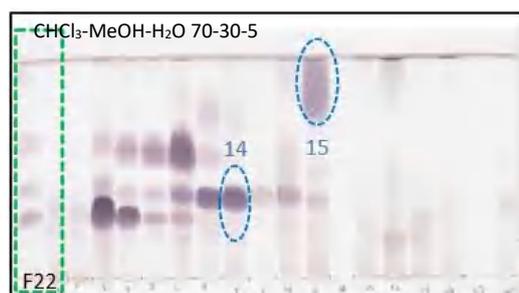


Figure 48 : Plaque CCM sur gel de silice des sous-fraction issues de la fraction F22

II.1.4.2. *Arenaria cerastioides* poir.

II.1.4.2.1. Macération

Le plante entière d'*Arenaria cerastioides* séchée et broyée (1 kg) a été macérée dans un mélange hydro-alcoolique : Méthanol/Eau ; (70 :30, v/v, 3x 24 heures). Après évaporation de la solution hydroalcoolique, on a obtenu un extrait de masse (200g) qui a été conservé au frigo dans un ballon hermétiquement fermé.

II.1.4.2.2. Séparations et purifications

Une partie de l'extrait brut obtenu 100g a été soumise à une solubilisation dans 1 L d'eau pour faire une séparation liquide-liquide par des solvants à polarité croissante (Chloroforme 5g ; Acétate d'éthyle 10g ; *n*-butanol). On a obtenu 15g de la phase *n*-butanol après évaporation à

sec. Un test sur plaque CCM de gel de silice en phase normale a été effectué pour les 3 extraits obtenus dans le $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}/70\text{-}30\text{-}5$ (Figure 49).

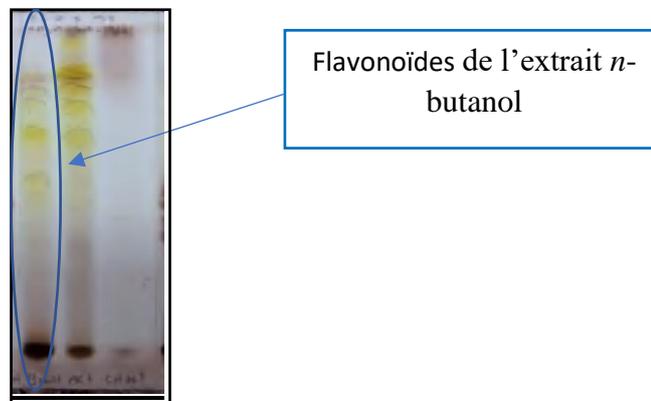


Figure 49 : Plaque CCM sur gel de silice des extraits CHCl_3 , ACOEt et *n*-BuOH

On a soumis 5 g de l'extrait butanolique à une Chromatographie liquide sous vide (VLC), en utilisant un système de gradient : $\text{H}_2\text{O-MeOH}$ (100 ml pour chaque composition). A : 80% H_2O , 20% MeOH ; B : 70% H_2O , 30% MeOH ; C : 65% H_2O , 35% MeOH ; D : 60% H_2O , 40% MeOH ; E : 40% H_2O , 60% MeOH ; F : 100% MeOH (Figure 20).

Tableau 20: Fractionnement de l'extrait butanolique sur VLC.

Fractions	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>F</u>
Poids(g)	2.12	0.66	0.85	0.33	0.49	0.3

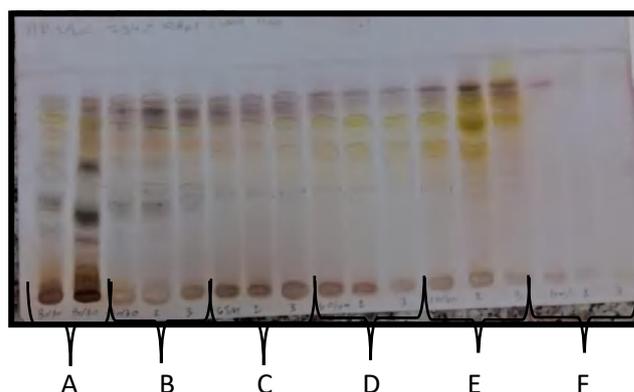


Figure 50 : Profil CCM sur gel de silice des fractions de l'extrait *n*-BuOH

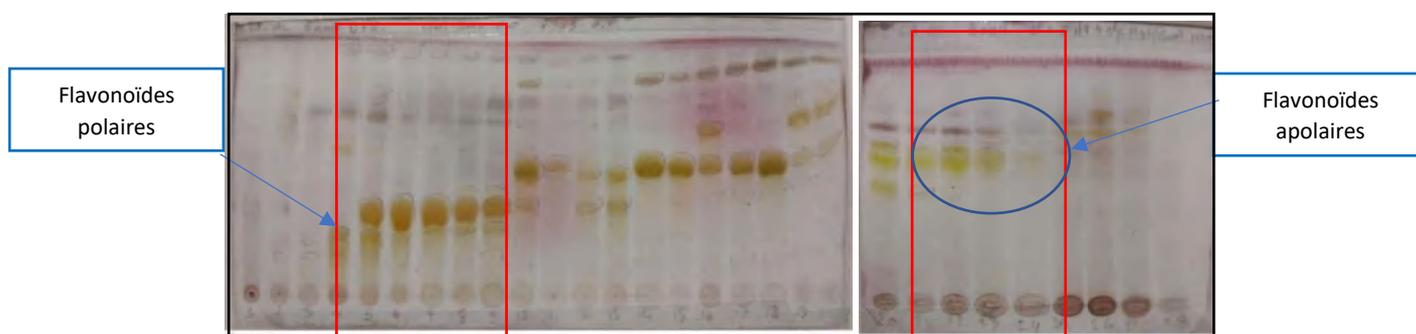
- Etude de la fraction D+E

La fraction **D+E** (0.82 g) a été soumise à une CLHP préparative, éluée avec un gradient de 12 à 25% de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{acide trifluoroacétique } 0.1\%$, en 45 minutes pour donner 28 fractions.

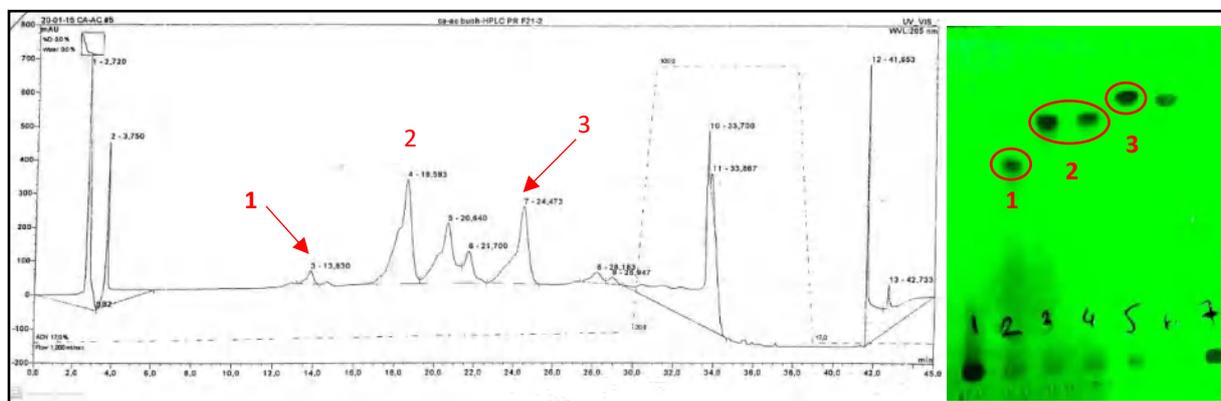
Tableau 21 : Sous-fractions obtenues par CLHP préparative de la fraction D+E

Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)	Fraction	Masse(mg)
F1	6.9	F8	4.7	F15	4.2	F22	17.9
F2	1.8	F9	4.3	F16	16.6	F23	9.2
F3	3.2	F10	10.1	F17	12.9	F24	6.5
F4	5.5	F11	3.9	F18	13.6	F25	22.0
F5	7.3	F12	3.9	F19	7.6	F26	26.0
F6	14.1	F13	6.3	F20	7.8	F27	5.1
F7	10.8	F14	14.2	F21	7.6	F28	3.2

Après le fractionnement de la fraction **D+E** par HPLC préparative, nous avons choisi la fraction **F21-24** (Figure 51), pour des séparations ultérieures. Les composés de ces fractions ont été séparés par HPLC semi-préparative.

**Figure 51** : Profil CCM sur gel de silice en phase normale de la fraction D+E

La fraction **F21-24 (40.4mg)** a été purifiée par CLHP semi-préparative, en utilisant un système de gradient de 17% à 20% de CH₃CN/H₂O/acide trifluoroacétique 0.1% pendant 45 minutes (Figure 52), pour donner **Ac 1** (3.0 mg, *t_R* 13.8 min), **Ac 2** (1.2 mg, *t_R* 18.6 min) et **Ac 3** (1.4 mg, *t_R* 24.4 min).

**Figure 52** : Plaque CCM sur gel de silice en phase normale des produits purs de **F21-24** et Chromatogramme de CLHP semi-préparative de la fraction **F21-24**

Chapitre 2

Méthodes expérimentales des activités antioxydantes

II.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante a été réalisée au Centre national de recherche en biotechnologie (CRBt) de Constantine.

Le pouvoir antioxydant des extraits (**brut, acétate d'éthyle et *n*-butanol des plantes *Arenaria cerastioides* et *Anagallis monelli***) a été évalué en utilisant trois méthodes complémentaires, le piégeage du radical DPPH[•] (Blois et al., 1958), le piégeage du radical cation ABTS^{•+} (Re et al., 1999), et la méthode CUPRAC « *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* » (Apak et al., 2004).

II.2.1.1. Piégeage du radical DPPH[•]

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable et accepteur d'hydrogène de couleur violet intense. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances anti-oxydantes, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents. La réaction (Figure 53) peut se résumer de la façon suivante :

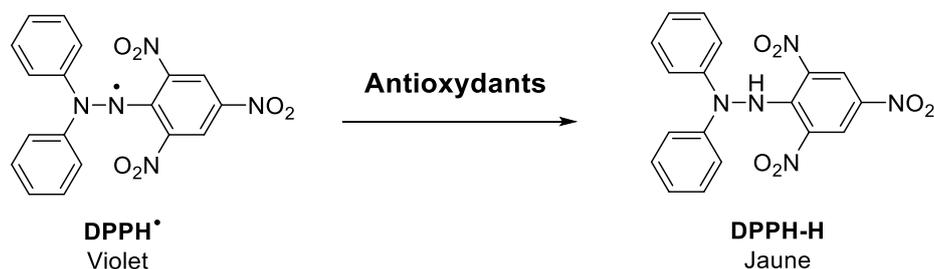


Figure 53 : La réaction de réduction du DPPH[•] en présence d'antioxydants

Cette réaction est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm après une incubation de 30 min dans l'obscurité à la température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 µg/mL) de la plante *Anagallis monelli* et (0.87, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 µg/mL) de la plante *Arenaria cerastioides*. Le Butylhydroxyanisole (BHA) et le Butylhydroxytoluène (BHT) ont été utilisés comme standard de référence, et le test a été effectué trois fois dans les mêmes conditions.

Le pourcentage d'inhibition de DPPH[•] a été calculé à l'aide de la formule suivante :

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

A témoin : absorbance du témoin

A échantillon : absorbance de l'extrait

Ce test est simple et rapide en raison de la disponibilité commerciale de DPPH[•], qui est un radical stable, et qui nécessite uniquement un spectrophotomètre UV-vis.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour (BHT) et (BHA) pris comme antioxydants standards. Dans ce test on définit la concentration inhibitrice à 50% « CI₅₀ ». Les CI₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé.

La méthode du piégeage du radical DPPH[•]

Préparation de la solution DPPH

La solution de DPPH est préparée en faisant dissoudre 6 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. Cette solution est gardée à -20 °C à l'abri de la lumière. Avant l'utilisation, la concentration de la solution DPPH est ajustée par dilution avec le méthanol, pour avoir une absorbance de 0,5 à $\lambda = 517$ nm.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puits 40 μ L de solution méthanolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 160 μ L de la solution DPPH. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μ L de méthanol avec 160 μ L de la solution DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 517 nm. Le test a été effectué sur trois répétitions. Les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type.

II.2.1.2. Piégeage du radical cation ABTS^{•+}

L'ABTS^{•+} (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) en état stable, est généré en faisant réagir l'ABTS avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) dans l'eau distillé (Figure 54). Ce chromophore de couleur bleue en solution aqueuse présente une absorption maximale à 734 nm.

L'avantage de cette méthode réside dans sa simplicité sur le plan opérationnel, le radical ABTS^{•+} réagit rapidement avec les antioxydants, généralement dans les 30 minutes, et peut être

utilisé sur une large gamme de pH. Cette espèce est soluble dans les solvants aqueux et organiques et n'est pas affecté par la force ionique (Prior et al., 2005).

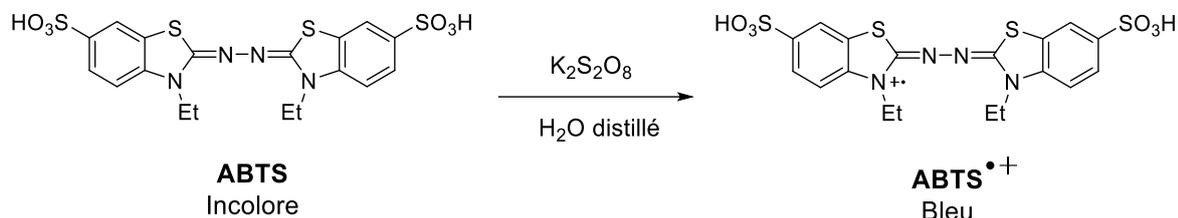


Figure 54 : Oxydation de l'ABTS en ABTS^{•+} en présence de persulfate de potassium

En présence de molécules antioxydantes, le radical cation ABTS^{•+} subit une réaction de réduction et retourne à sa forme initiale ABTS incolore (Figure 55).

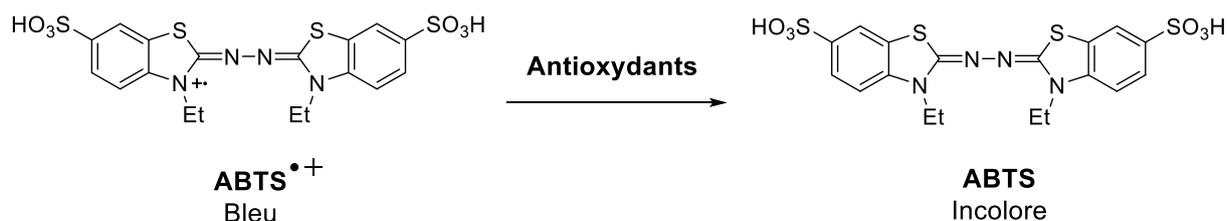


Figure 55 : Réduction de l'ABTS^{•+} en présence d'antioxydants

Cette réaction est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 734 nm après une incubation de 10 min dans l'obscurité à la température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 µg/mL) de la plante *Anagallis monelli* et (0.87, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 µg/mL) de la plante *Arenaria cerastioides*. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standard de référence, et le test a été effectué trois fois.

Le pourcentage d'inhibition de l'ABTS^{•+} a été calculé à l'aide de la formule suivante :

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

A témoin : absorbance du témoin

A échantillon : absorbance de l'extrait

Les CI_{50} sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations testées.

La méthode du piégeage du radical cation ABTS^{•+}

Préparation de la solution ABTS

Le radical cation ABTS^{•+} a été préparé en mélangeant une solution d'ABTS (19,2 mg dans 5 mL H₂O) et une solution de persulfate de potassium K₂S₂O₈ (3,3 mg dans 5 mL H₂O). Le mélange obtenu est abandonné pendant 12-16h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Avant usage, la concentration de la solution ABTS est ajustée par dilution avec le méthanol, pour avoir une absorbance de $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puit 40 μ L de solution hydroalcoolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 160 μ L de la solution ABTS^{•+}. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μ L de méthanol avec 160 μ L de la solution ABTS^{•+}. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm. Le test a été effectué sur trois répétitions (les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type).

II.2.1.3. La méthode CUPRAC

Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC

La phosphatidyléthanolamine est le deuxième lipide le plus abondant dans les cellules des mammifères (25% des lipides membranaires), et il est aussi présent à des niveaux élevés dans le cerveau (45% des lipides membranaires) (Vance et al., 2013). Historiquement, la phosphatidyléthanolamine n'a pas été prise en compte parmi les lipides fixant les métaux, étant donné qu'elle ne porte pas de charge négative au pH physiologique (McLaughlin and Poo., 1981). La phosphatidyléthanolamine contient cependant une amine primaire qui pourrait servir de ligand pour les ions de métaux de transition.

Récemment les travaux de (Poyton et al., 2016) (Figure 56) ont révélés que le Cu (II) se lie au fragment amine sur les lipides phosphatidyléthanolamine et peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pour augmenter la concentration des ERO, ce qui pourrait, à son tour, oxyder des doubles liaisons sur les queues lipidiques adjacentes à la surface de la membrane.

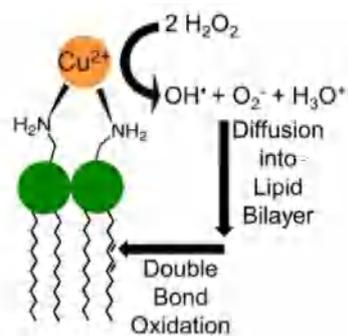


Figure 56 : Représentation schématique du rôle de Cu (II) dans la production de radicaux (Poyton et al., 2016)

Dans ce contexte, nous avons testé la capacité antioxydante de nos molécules par réduction de l'espèce Cu (II) (CUPRAC). Cette Méthode consiste à utiliser le complexe Cu (II) néocuproïne [Cu (II)-Nc₂] en tant qu'agent oxydant chromogène (Figure 57).

En effet, en présence de molécules antioxydantes et un tampon aqueux d'acétate d'ammonium à pH 7, le complexe cuivre-néocuproïne en solution méthanolique subit une réaction de réduction, qui se traduit par un changement de coloration (virage du bleu au jaune-orangé)

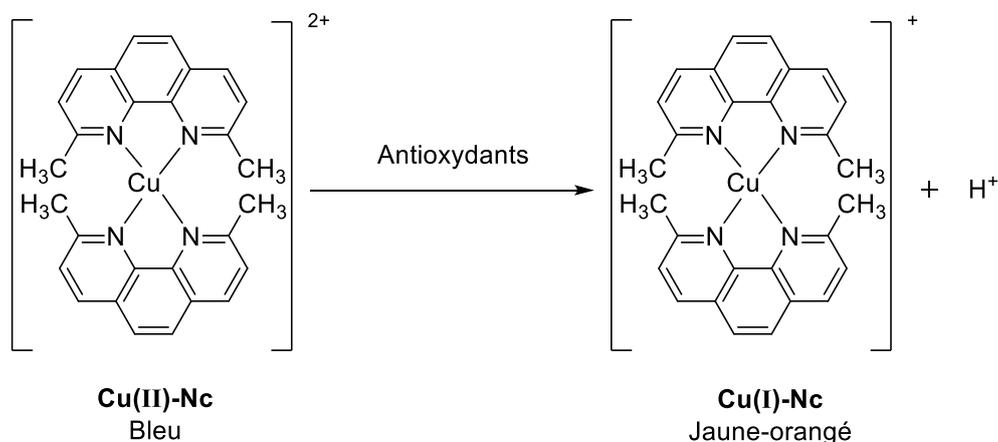


Figure 57 : Réduction du complexe [Cu (II)-Nc₂] par un antioxydant

La réaction est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant l'absorbance à 450 nm après une incubation de 60 min à température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 et 200 µg/mL) sur la plante *Anagallis* et (0.87, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 µg/mL) sur la plante *Arenaria*. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standard de référence, et le test a été effectué en triplicate.

Les $A_{0.5}$ (la concentration indiquant 0,50 absorbance) sont déterminées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en valeurs d'absorbance en fonction de différentes concentrations testées.

Préparation des solutions

La solution (S1) a été préparée par solubilisation de 1,927 g d'acétate d'ammonium (AcNH_4) dans 25 mL d'eau distillée, la solution (S2) a été préparée par solubilisation de 0,0426 g de ($\text{CuCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$) dans 25 mL d'eau distillée, cette solution à une coloration bleue, et la solution (S3) a été préparée en faisant dissoudre 0,039 g de Neocupronin dans 25 mL d'éthanol.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puit 40 μL de solution méthanolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 60 μL de la solution (S1), 50 μL de la solution (S2) et 50 μL de la solution (S3). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μL de méthanol avec 60 μL (S1), 50 μL (S2) et 50 μL (S3). Après 60 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 450 nm. Le test a été effectué sur trois répétitions (les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type).

Analyse des données

Les résultats de l'activité antioxydante des deux plantes, sont exprimés en concentration inhibitrice médiane CI_{50} pour les tests DPPH \cdot et ABTS $^{+\cdot}$. Pour l'évaluation de la capacité antioxydante par réduction du cuivre II (méthode CUPRAC), les résultats sont exprimés en concentration indiquant 0,50 absorbance $A_{0.5}$ (absorbance médiane).

Les données sont soumises à l'analyse à l'aide du logiciel statistique GraphPad PRISM software (version 8.0.2) et le test ANOVA a été réalisé pour déterminer la signification des différences activités antioxydantes des extraits et les fractions des deux plantes. Au niveau de signification $p < 0,05$.

Partie III
Résultats et Discussion

Chapitre 1 :
Identification des produits isolés
d'*Anagallis monelli* ssp. *linifolia* L.

III.1.1. Étude chimique d'*Anagallis monelli* ssp. *linifolia* L.

La plante d'*Anagallis monelli* en état de poudre sèche (1000 g) a été extraite par une solution hydroalcoolique à 70% MeOH (5 × 24 h). L'extrait brut obtenu après évaporation (300 g) a subi une extraction liquide-liquide avec EtOAc puis *n*-BuOH. L'extrait *n*-BuOH a été soumis à une chromatographie sur colonne (CC) de résine diaion HP-20, en utilisant un gradient du système H₂O-MeOH ce que nous a permis d'obtenir trois fractions (A-C). Seule, la fraction C a été exploitée. La purification de cette fraction a été effectuée par flash chromatographie C-18, HPLC semi-préparative et HPLC préparative. Cette procédure nous a conduit à isoler vingt-trois composés **Am** (1-23) (Figure 58).

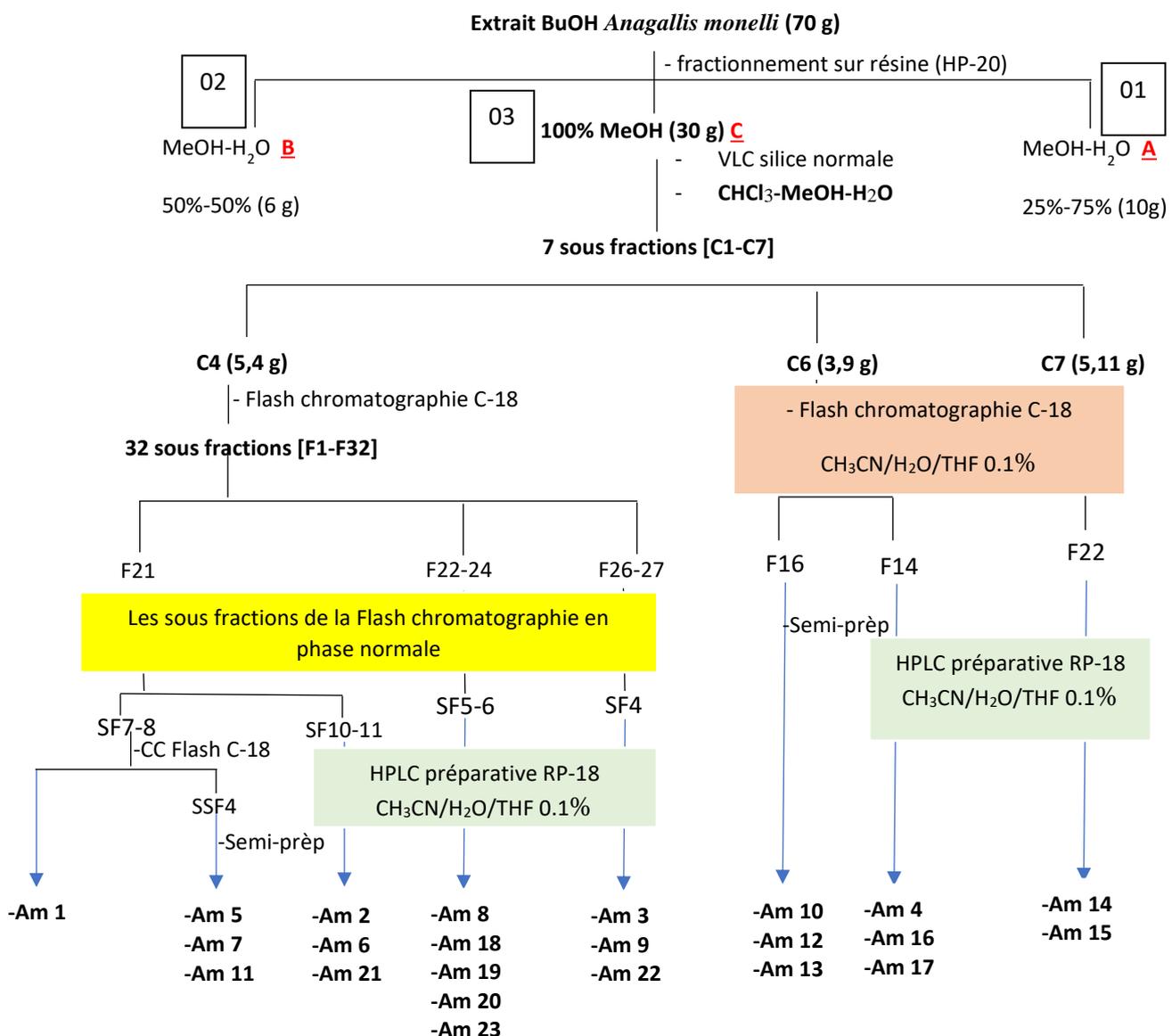


Figure 58 : Schéma d'extraction et de purification des composés d'*Anagallis monelli* L.

III.1.2. Détermination structurale des saponosides d'*Anagallis monelli*

Vingt-trois saponines (**Am1-23**) ont été isolées à partir de l'extrait butanolique issu de l'extraction hydrométhanolique d'*Anagallis monelli*, dont treize sont de nouvelles saponines monodesmosides (glycosilation en position 3) (**Am1-13**).

Nature des génines des composés Am 1- Am 23

L'étude des corrélations observées sur les spectres RMN 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (HSQC, HMBC, et COSY) et la comparaison avec les données de la littérature ont permis d'identifier les génines d'*Anagallis monelli*, qui sont des triterpénoïdes pentacycliques. Les génines ont été identifiées (Tableau 22, Figure 59) à la Priverogénine B (**Am 1-2, 18-21**), la Protoprimulagénine A (**Am 14 et 15**), l'Anagalligénine B et dérivés (**Am 3-7, 16-17**), l'Anagalligénone B (**Am 8-9, Am 22**) et l'Hédéragénoaldéhyde (**Am 10- 13**).

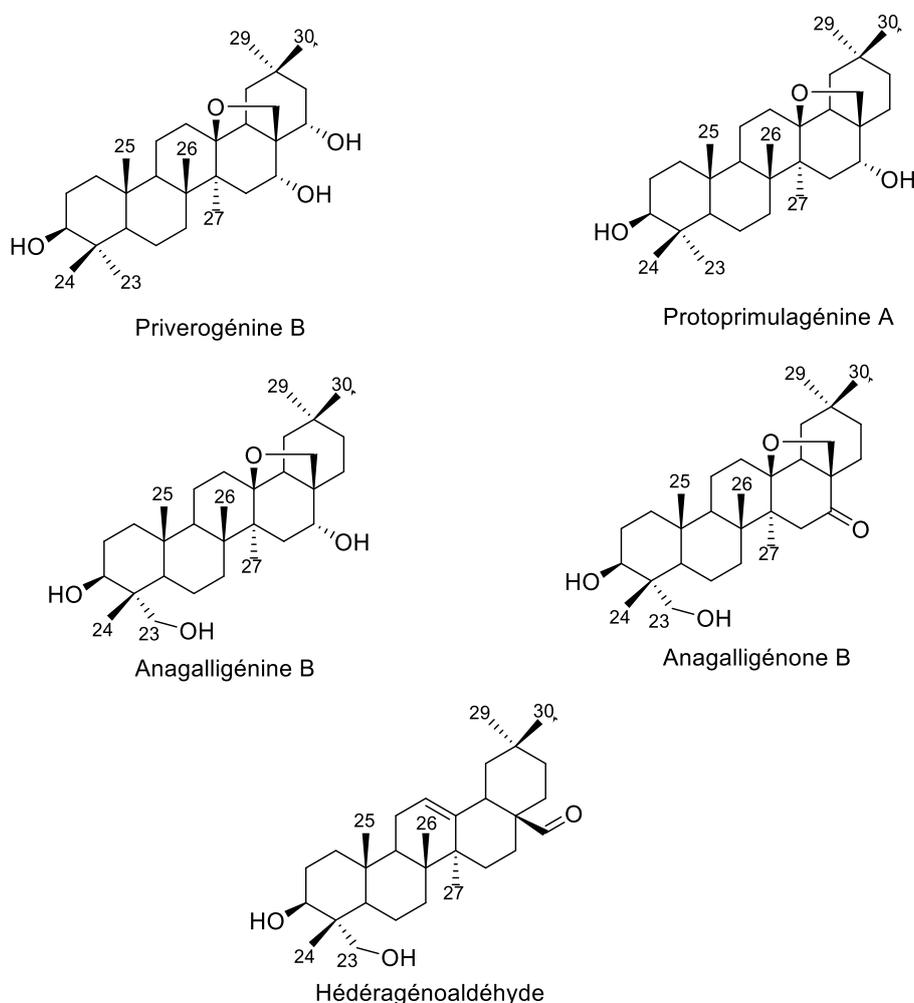


Figure 59 : Structures des génines des saponosides isolées à partir d'*Anagallis monelli* L.

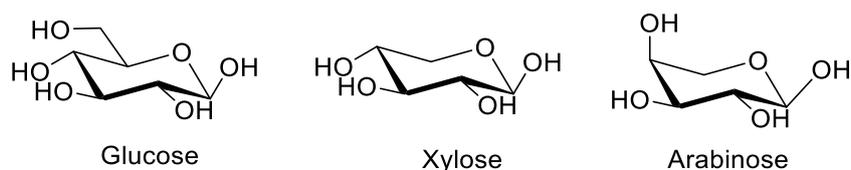
Tableau 22 : Nature des génines des composés Am (1-23).

Génines	Composés	Références
Priverogénine B	Am 1-2, 18-21	(Kitagawa et al.,1972)
Protoprimulagénine A	Am 14-15	(Kohda et al., 1989)
Anagalligénine B	Am 3-7, 16-17	(Aliotta et al.,1992)
Anagalligénone B	Am 8-9, 22	(Heitz et al.,1971)
Hédéragénoaldéhyde	Am 10-13, 23	(Mahato et al., 1991)

Nature des sucres

Les analyses spectrales des données obtenues en ^1H - ^1H COSY, HSQC, TOCSY et ROESY, complétées par celle en HMBC, plus l'évaluation des constantes de couplage et des déplacements chimiques ont permis de caractériser chaque proton ou carbone anomérique et d'identifier la nature des sucres.

Les configurations absolues des sucres ont été déterminées grâce à l'hydrolyse acide de la fraction C (200 mg) suivie d'une co-chromatographie avec des témoins sur une plaque préparative, en utilisant un système de gradient (MeCOEt: iso-PrOH: Me₂CO: H₂O, 20:10: 7:2). Les types de sucres identifiés dans la plante d'*Anagallis monelli* sont : l'arabinose, le glucose et le xylose (Figure 60).

**Figure 60** : Structures des sucres identifiés dans les saponosides isolés

Nous allons commencer par l'élucidation structurale des saponosides de la génine Priverogénine B : **Am 1-2**, ensuite on va continuer avec les génines, Anagalligénine B : **Am 3-7**, Anagalligénone B : **Am 8-9** et à la fin l'Hédéragénoaldéhyde : **Am 10-13** et la Protoprimulagénine A **Am 14 et 15**.

Les tableaux des déplacements chimiques de proton (^1H) et celui du carbone (^{13}C) de la génine ainsi que de la partie osidique sont reportés à la fin de chaque interprétation.

III.1.2.1. Elucidation structurale du composé Am 1

Le spectre de masse haute résolution du composé **Am 1** a été obtenu en HR-ESI-MS mode négatif (Figure 61) et montre un pic pseudomoléculaire à m/z 1061.5537 $[M-H]^-$ (calculé 1061.5532) correspondant à la formule brute $C_{52}H_{85}O_{22}$.

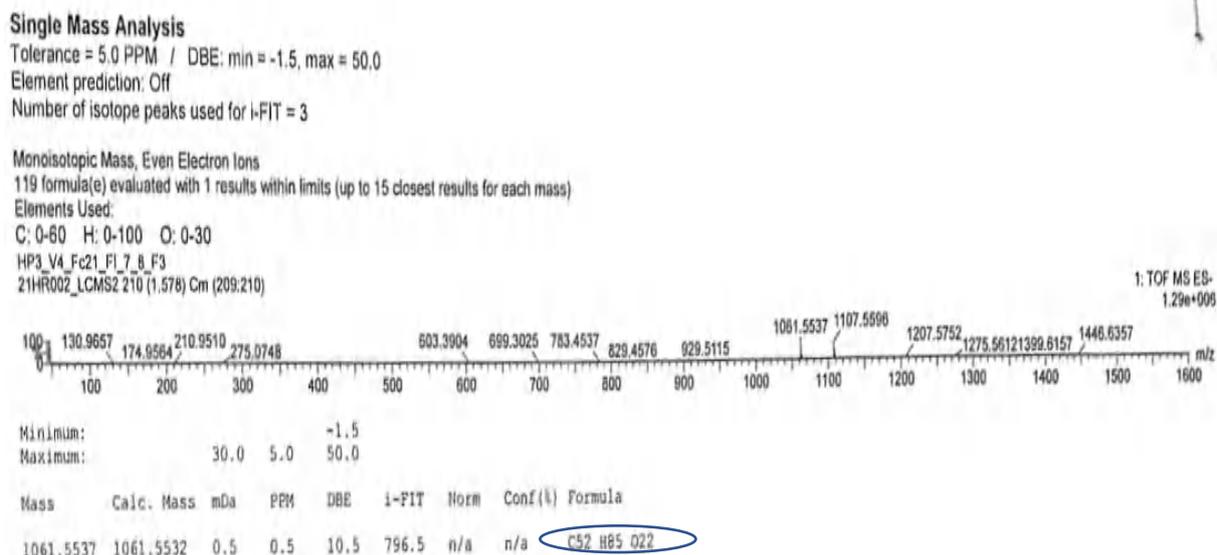


Figure 61 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 1**

- Analyse du spectre de RMN 1H du composé **Am 1**

L'analyse du spectre de RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 1** (Figure 62), révèle la présence d'un squelette triterpénique et une partie sucre formée de 4 unités osidiques qui est liée à la génine en position 3, cela est mis en évidence grâce aux signaux caractéristiques suivants :

- Sept singulets d'intégration 3H chacun entre δ_H 1.3 et 0.9 ppm (1.28, 1.17, 1.08, 1.00, 0.98, 0.92 et 0.87) correspondant à 7 méthyles tertiaires angulaires. Des groupements aliphatiques CH et CH_2 de la génine qui apparaissent dans la zone entre δ_H 0.9 et 4.35 ppm. Le proton H-3 résonne à δ_H 3.16 ppm sous la forme d'un doublet de doublets ($J=11.7, 4.3$ Hz) indiquant l'absence de substitution en position 2.
- Le proton H-16 résonne à δ_H 4.33 ppm sous la forme d'un doublet ($J= 5.0$ Hz) indiquant la présence d'un groupement hydroxyle (OH).
- Le proton H-22 résonne à δ_H 3.74 ppm sous la forme d'un doublet de doublets ($J= 11.6, 4.9$ Hz) indiquant la présence d'un groupement hydroxyle (OH) et aucune substitution en position 21. Un proton résonnant sous la forme d'un doublet de doublets ($J=14.0, 2.5$ Hz) à δ_H 1.47 ppm

attribuable à H-18, qui indique la présence d'une génine de type oleananeoleanane (Kitagawa et al.,1972). Deux protons résonnants sous la forme multiplet à δ_H 3.67 et 3.34 ppm attribuable à H₂-28 ce qui indique la présence d'un méthylène oxygéné.

- la présence de quatre unités osidiques sont justifiées par les signaux caractéristiques suivants :

- Quatre protons anomériques résonnants sous forme de doublets à δ_H 4.71 ppm ($J=7.7$ Hz), δ_H 4.53 ppm ($J=7.6$ Hz), δ_H 4.54 ppm ($J=7.8$ Hz) et δ_H 4.41 ppm ($J=6.6$ Hz)
- Un ensemble de signaux dans la zone comprise entre δ_H 3.3 et 4.25 ppm est attribué aux protons osidiques.

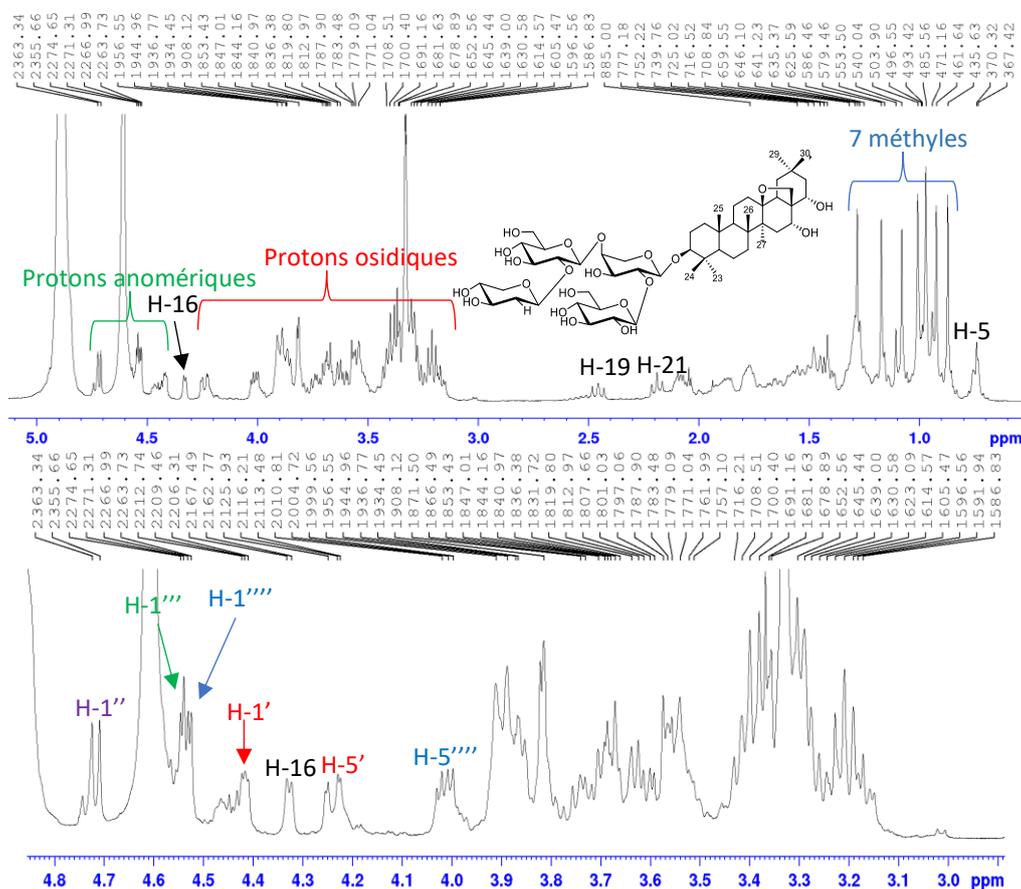


Figure 62 : Spectre de RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) du composé **Am 1**

- Analyse du spectre de RMN ¹³C du composé **Am 1**

Le spectre de RMN ¹³C de **Am 1** enregistré à 125 MHz (CD₃OD) (Figure 63), permet de distinguer les carbones suivants :

- Un signal à δ_C 86.9 ppm montre une présence d'un groupement oxygéné (OR) en position 13 (C-13).

- Des groupements aliphatiques CH, CH₂, CH₃ et carbones quaternaires de la génine résonnant entre δ_C 15.3 et 55.4 ppm.

- Un ensemble de signaux se situant entre δ_C 60 et 90 ppm attribuables aux carbones osidiques et aux carbones hydroxyles de l'aglycone. Le signal à δ_C 90.0 ppm est caractéristique du carbone C-3 lié à un sucre. Les carbones anomériques résonnent à δ_C 103.0, 103.4, 104.2 et 105.9 ppm.

Le composé **Am 1** est constitué d'une génine pentacyclique hydroxylée et substituée par quatre sucres. Le carbone C-3 déblindé à δ_C 90.0 ppm par rapport au signal de la génine libre (≈ 77 ppm) est engagé dans une liaison glycosidique. Il s'agit donc d'une saponine monodesmoside.

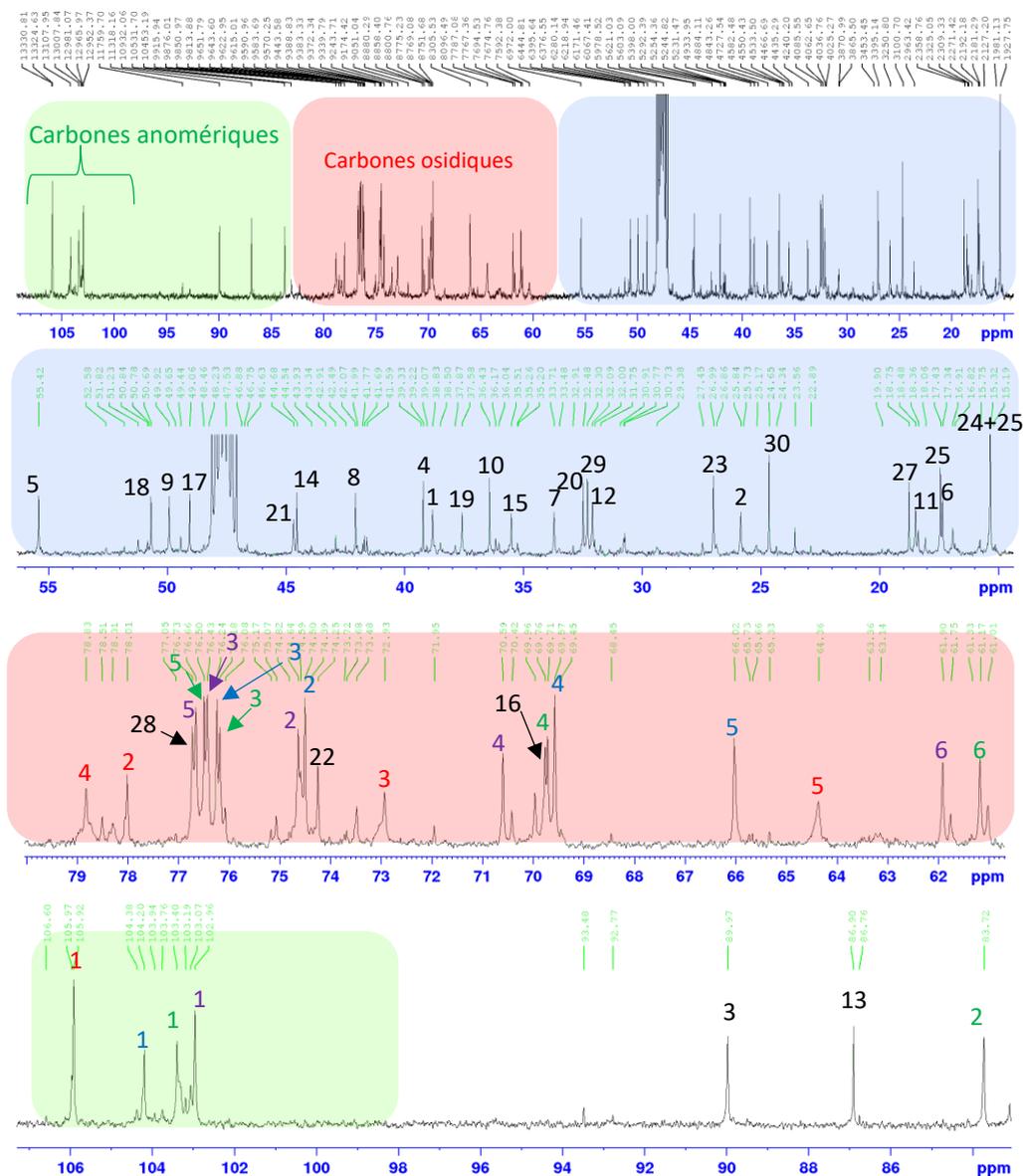


Figure 63 : Spectre de RMN ¹³C (150MHz, CD₃OD) du composé **Am 1**.

- Analyse du spectre COSY de la partie génine du composé Am 1

En examinant le spectre COSY ^1H - ^1H du composé **Am 1** (Figure 65) nous pouvons identifier les positions des protons non analysables sur le spectre de RMN ^1H :

- le proton H-3 à δ_{H} 3.16 ppm corrèle avec les deux protons géminés H_{a, b}-2 à δ_{H} 1.76 et 1.88 ppm. Et les deux protons géminés H_{a, b}-2 corrèlent avec les deux protons géminés H_{a, b}-1 résonant à δ_{H} 0.98 et 1.77 ppm.
- le proton H-18 présente des corrélations avec les deux protons géminés H_{a, b}-19 à δ_{H} 1.15 et 2.46 ppm (Figure 65).
- le méthyle situé à δ_{H} 0.87 ppm en position 24 corrèle avec le méthyle résonant à δ_{H} 1.08 ppm suggéré pour le CH₃-23. Le méthyle situé à δ_{H} 0.98 ppm en position 30 corrèle avec le méthyle résonant à δ_{H} 1.00 ppm suggéré pour le CH₃-29.
- le proton H-16 à δ_{H} 4.33 ppm corrèle avec les deux protons géminés H_{a, b}-15 à δ_{H} 1.28 et 2.09 ppm. Le proton H-22 à δ_{H} 3.74 ppm corrèle avec les deux protons géminés H_{a, b}-21 à δ_{H} 1.40 et 2.20 ppm.
- le proton H-9 résonne à δ_{H} 1.28 ppm et présente des corrélations avec les deux protons géminés H_a-11(δ_{H} 1.49) et H_b-11 (δ_{H} 1.64), ce dernier corrèle avec le proton H_a-12 (δ_{H} 1.31) alors que le premier corrèle avec le proton H_b-12 qui résonne à δ_{H} 2.06 ppm.

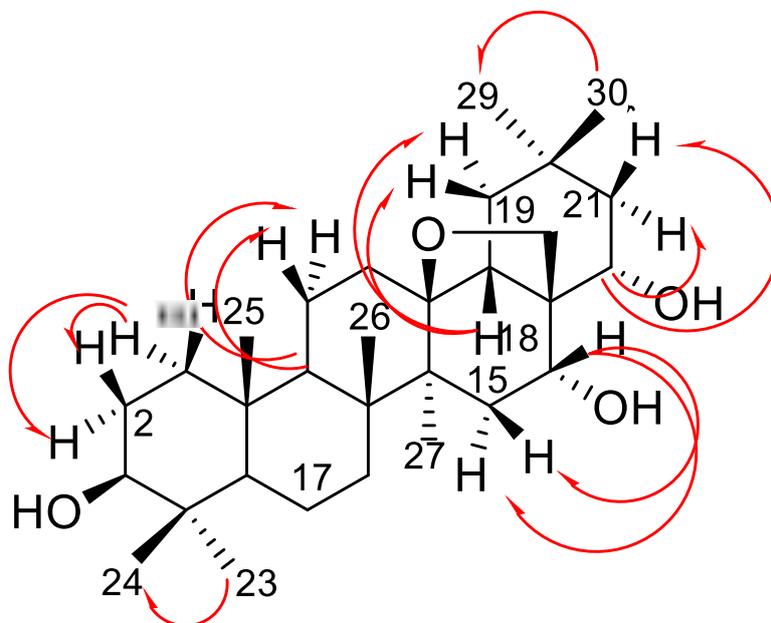


Figure 64 : Corrélations COSY de la génine du composé **Am 1**.

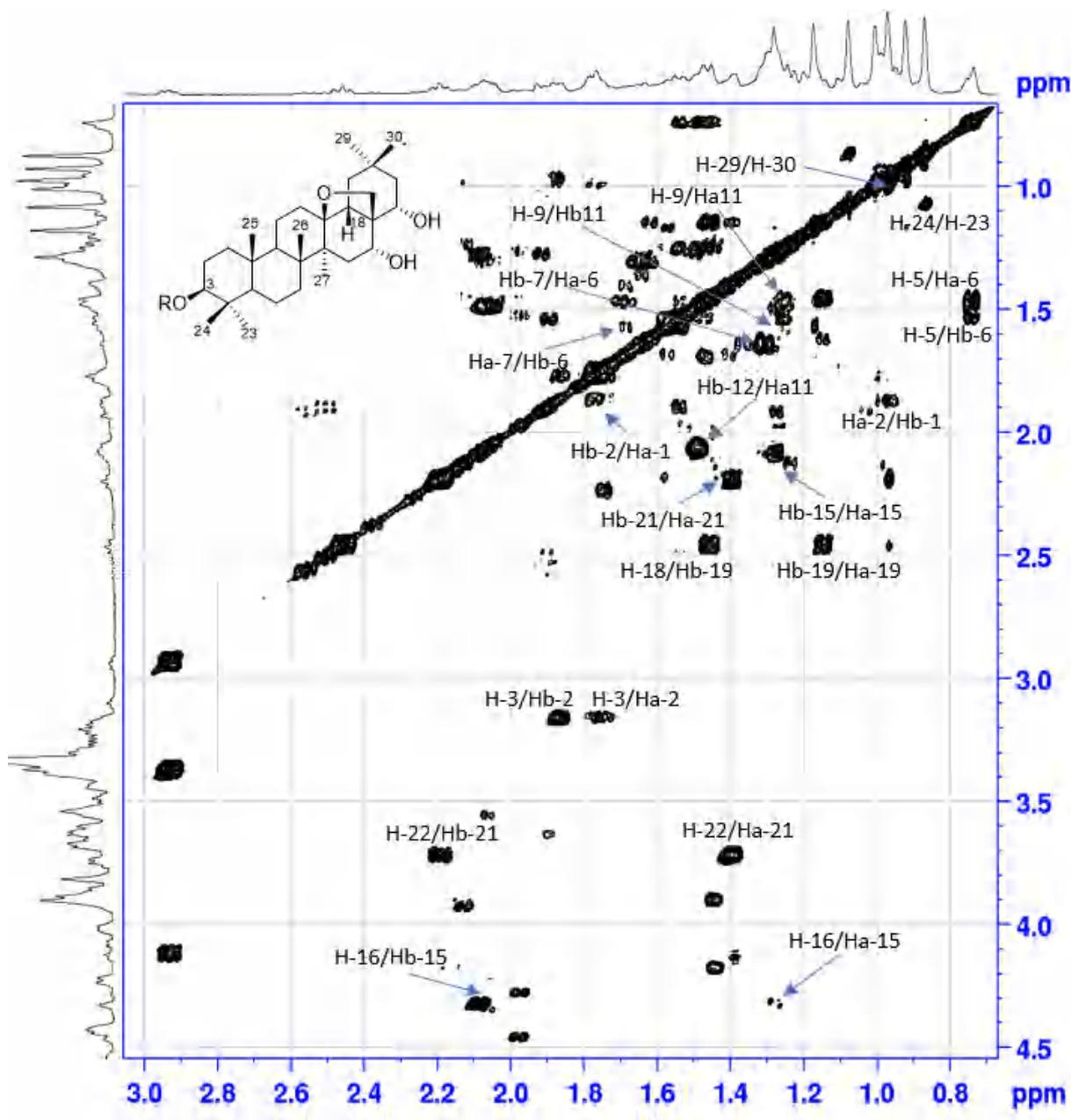


Figure 65 : Spectre COSY de la partie génine du composé **Am 1**

- Analyse du spectre HSQC de la partie génine du composé Am 1

L'interprétation du spectre HSQC met en évidence les couplages directs $^1J_{H-C}$. Le spectre HSQC de **Am 1** (Figure 66 a, b) permet de déterminer les déplacements chimiques des carbones portant les protons aliphatiques identifiés grâce aux spectres RMN 1D et COSY. A partir des protons identifiés par le spectre COSY, sont attribués les carbones correspondants : C-1 (δ_C 38.8), C-2 (δ_C 25.8) et C-3 (δ_C 90.0), C-9 (δ_C 50.0), C-11 (δ_C 18.5), C-12 (δ_C 32.1), C-18 (δ_C 50.7), C-19 (δ_C 37.6), C-21 (δ_C 44.7) et C-22 (δ_C 74.2) ppm. Ainsi que les méthyles CH₃-23, CH₃-24, CH₃-25, CH₃-26, CH₃-27, CH₃-29 et CH₃-30.

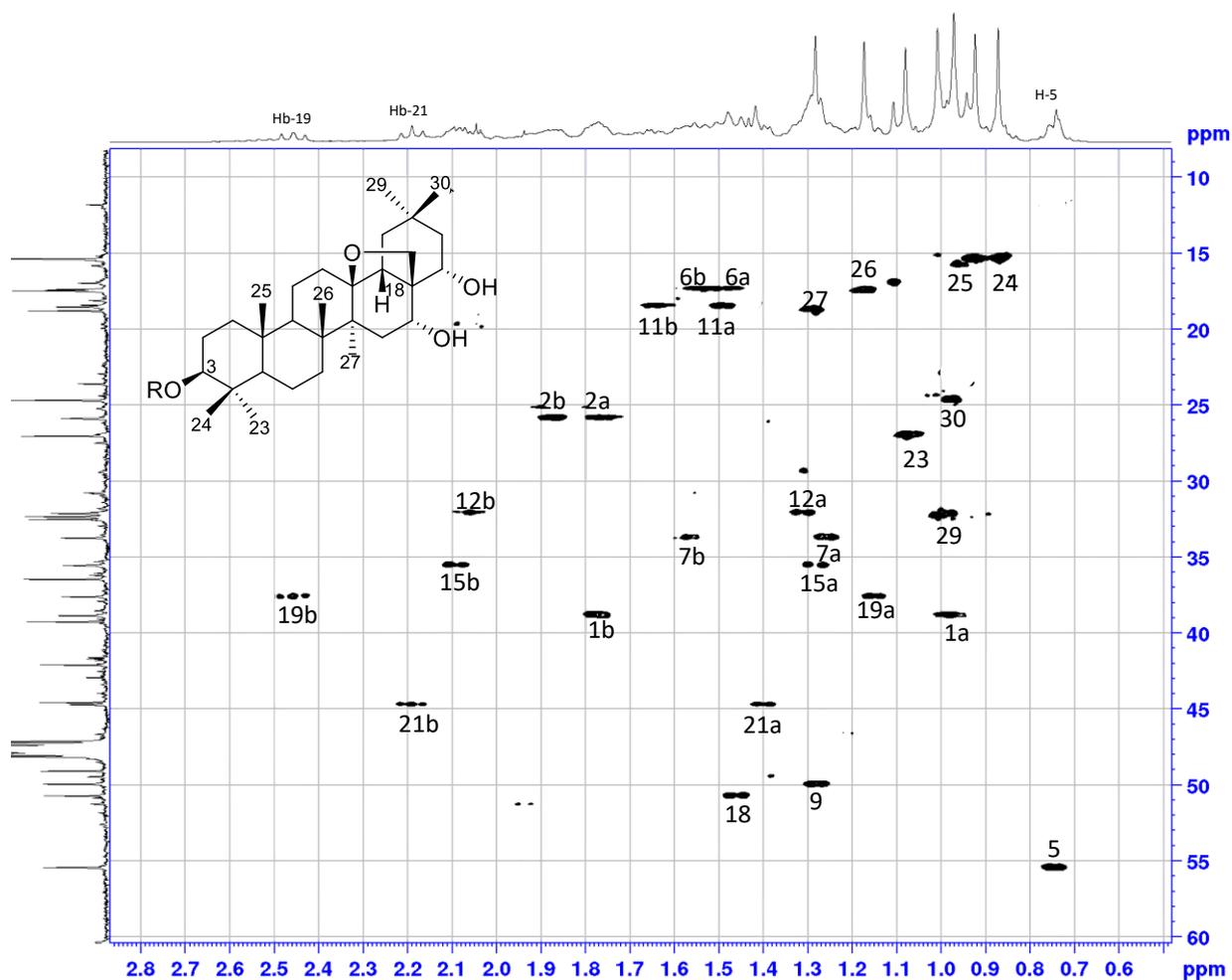


Figure 66a : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 1

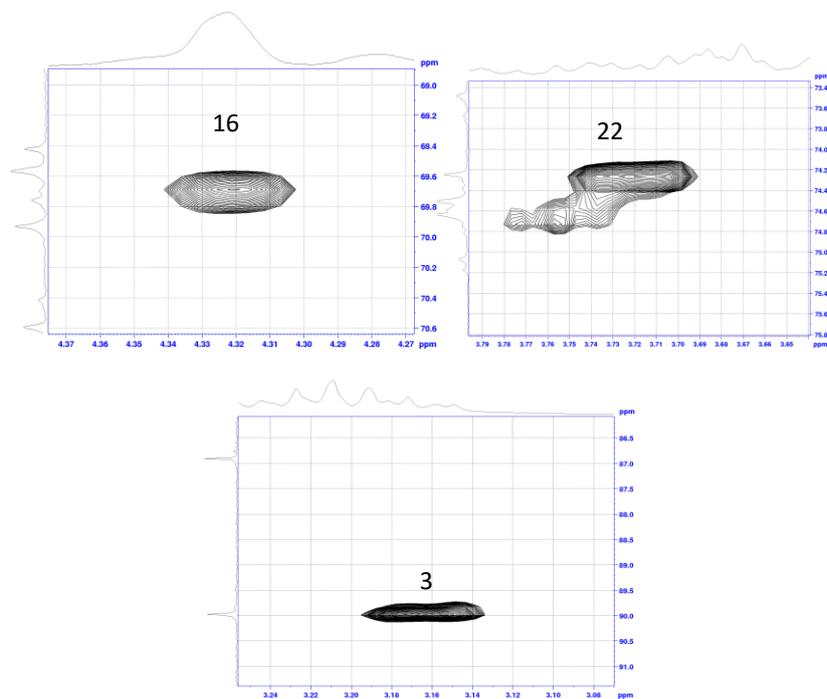


Figure 66b : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 1.

- Analyse du spectre HMBC de la partie génine du composé Am 1

L'analyse de spectre HMBC du composé **Am 1** (Figures 69a et 69b), permet d'établir les couplages à longue distance ${}^{n>1}J_{H-C}$, présentant une confirmation sur l'analyse précédente et aussi de compléter les corrélations des carbones quaternaires avec les protons voisins.

- les corrélations observées entre les protons du méthyles CH₃-23 résonant à δ_H 1.08 ppm et les carbones à δ_C 90.0 (C-3), 39.2 (C-4), 55.4 ppm (C-5) et le carbone β -axial plus blindé du méthyle C-24 à δ_C 15.3 ppm.

- des corrélations observées entre les protons du méthyles CH₃-25 résonant à δ_H 0.92 et les carbones à δ_C 38.8 (C-1), 55.4 (C-5), 50.0 (C-9) et 36.4 (C-10).

- Ce qui permet d'identifier les protons H-5 δ_H 0.74 ppm et H-9 δ_H 1.28 ppm. Puis attribuer les protons Ha, b-6 et le proton Ha-7 dans le spectre COSY, à partir d'une corrélation entre H-5/Ha, b-6 et le proton Ha-7 à partir de sa corrélation avec Ha-6.

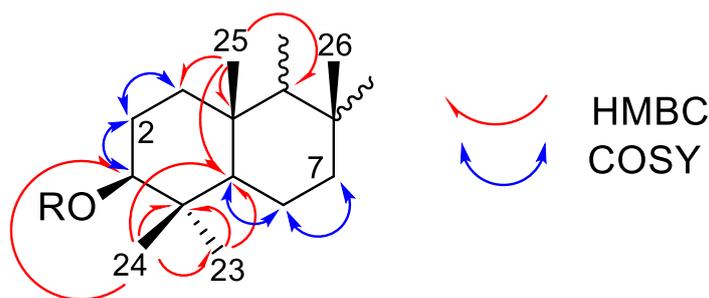


Figure 67 : Corrélations COSY et HMBC des noyaux A et B du composé **Am 1**.

- le méthyle CH₃-26 à δ_H 1.17 ppm, au niveau duquel d'autres corrélations sont observées avec trois carbones dont un attribué au carbone secondaire CH₂-7 (δ_C 33.7) et deux quaternaires Cq-8 et Cq-14 résonant à δ_C 42.1 et 44.5 ppm, respectivement. Ces deux derniers corrélient avec les protons du méthyle situé à δ_H 1.28 ppm attribuable au CH₃-27.

- Deux autre corrélations sont observées à partir des protons du méthyle CH₃-27 avec le carbone quaternaire C-13 à δ_C 86.9 ppm, et le carbone secondaire résonant à δ_C 35.5 ppm attribuable au carbone C-15.

- Les corrélations avec les protons des deux méthyles CH₃-29 et CH₃-30 dont les signaux apparaissant à δ_H 1.00 et δ_H 0.98 ppm permettent de confirmer les attributions des carbones C-19 et C-21 et d'assigner le signal à 32.5 ppm à C-20.

- les corrélations observées entre les protons en position 28 à δ_H 3.67 ppm (H₂-28) et le signal du carbone quaternaire qui porte un oxygène à δ_C 86.9 ppm sur le spectre HMBC, attribué à C-13 et les corrélations avec C18 situés à δ_C 50.7 ppm respectivement, permet de présenter le groupement hydroxyle en position 28. Les protons CH₂-28 corrélés à C-13 dans le même spectre, implique une cyclisation du groupement hydroxyle de CH₂-28 en C-13 (Figure 68).

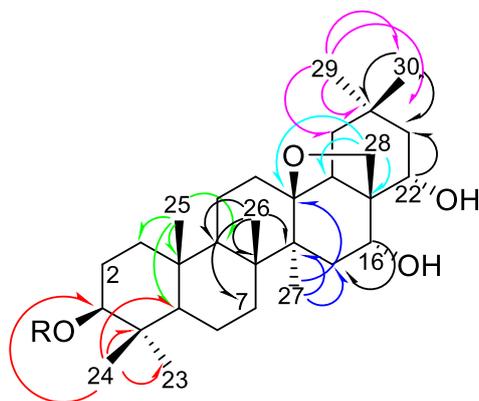


Figure 68 : Corrélations HMBC de la partie génine du composé **Am 1**.

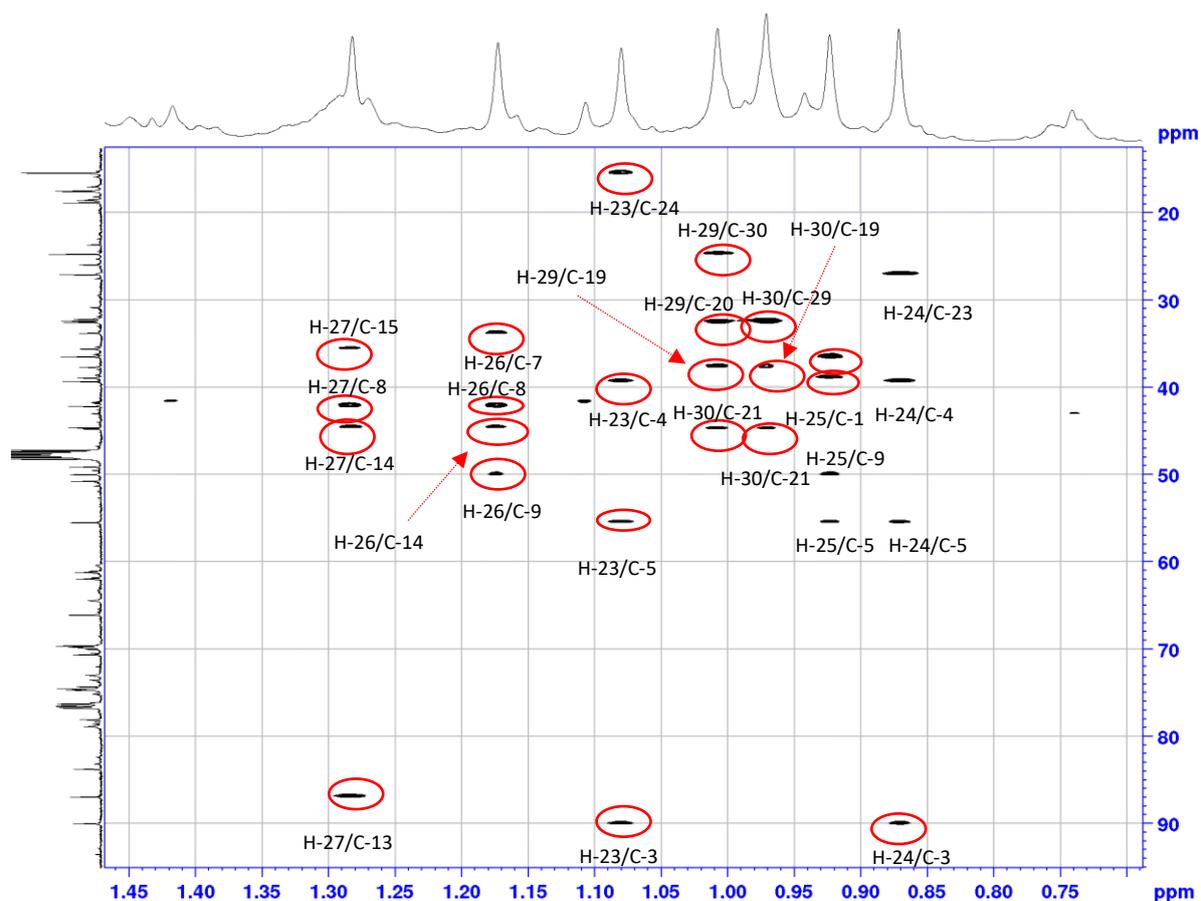


Figure 69a : Spectre HMBC de la partie génine étalée de 0.75 à 1.45 ppm du composé **Am 1**

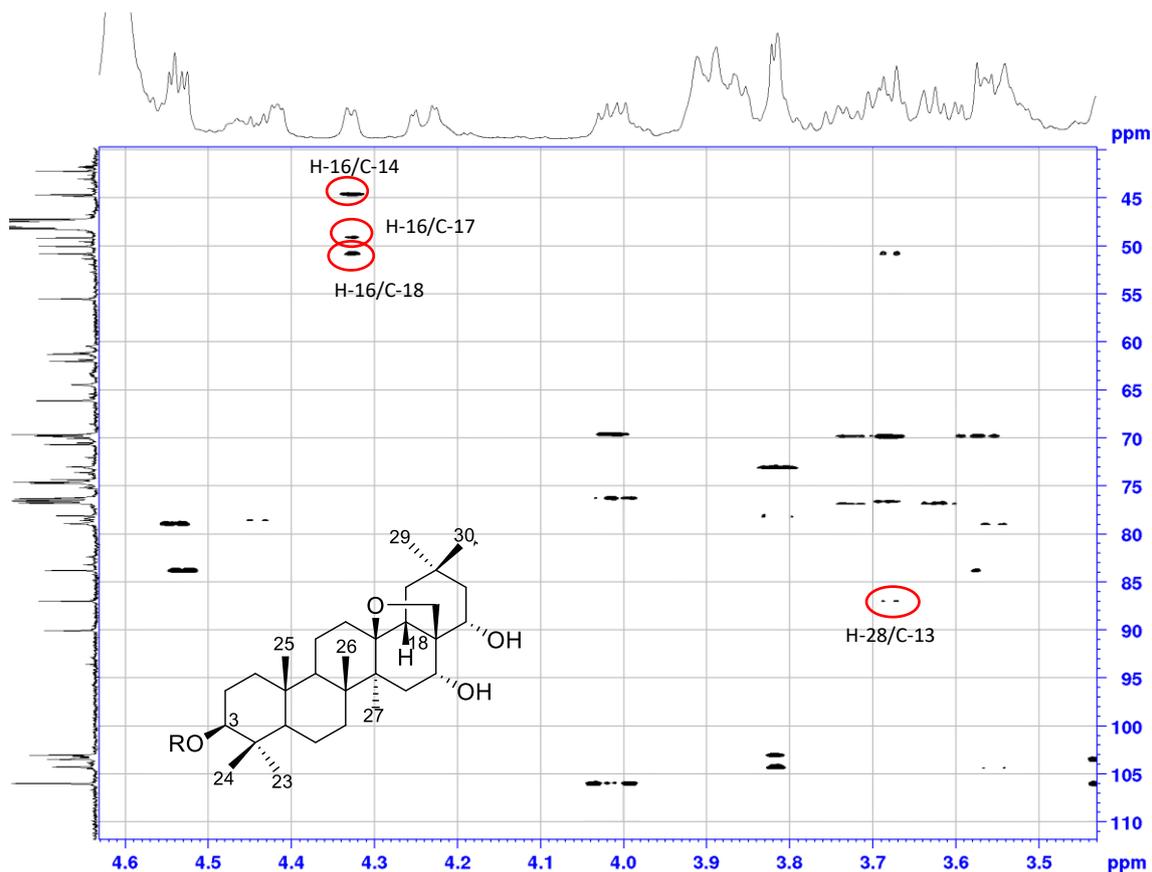


Figure 69b : Spectre HMBC de la partie génine étalée de 3.50 à 4.60 ppm du composé **Am 1**

- Analyse du spectre ROESY de la partie génine du composé Am 1

L'analyse des corrélations observées sur le spectre ROESY (Figure 71) montre une corrélation H-23/H-3, H-23/H-5, H-16/ Heq -15, H-24/ Hax-2, H-25/ H-26 et H-27/ Hax-9. En revanche, H-22 permet d'observer une corrélation avec H-18 et H-30 β -axial, alors que H-18 corrèle avec Heq-12 et H-30 (Lehbili et al., 2018), indiquant que l'hydroxyle en position 22 est équatoriale.

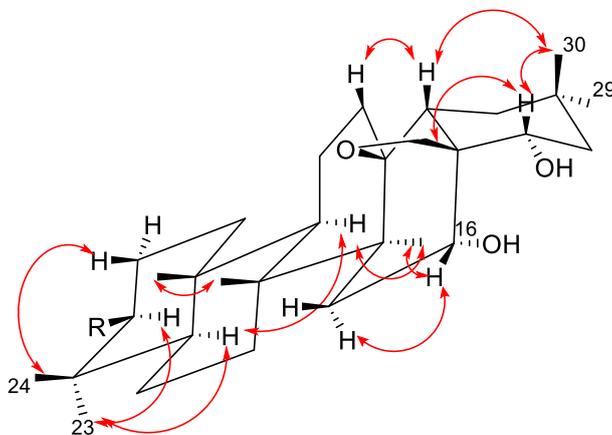


Figure 70 : Corrélations ROESY de la partie génine du composé **Am 1**

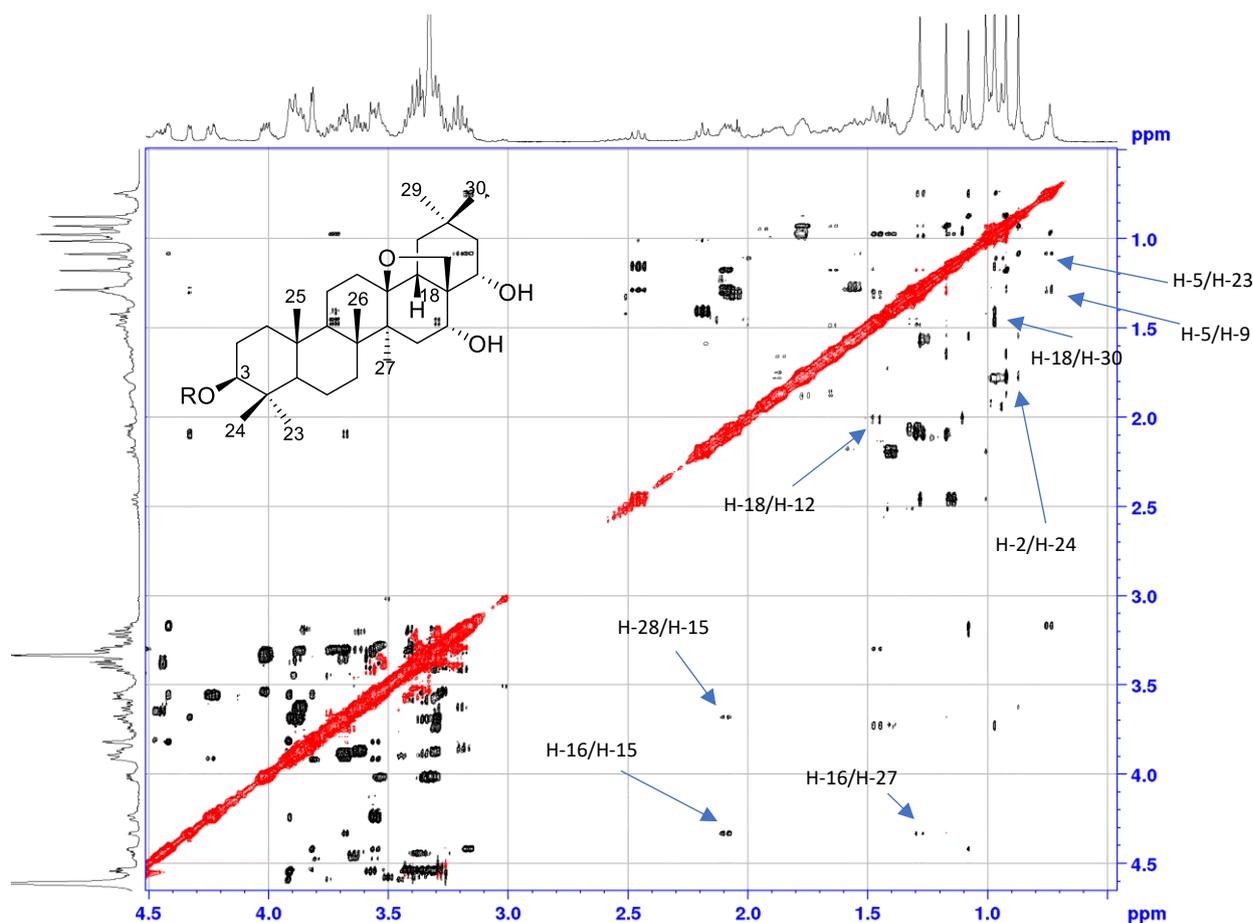


Figure 71 : Spectre ROESY de la partie génine du composé Am 1

- Analyse du spectre RMN ^1H de la partie osidique du composé Am 1

Le spectre de RMN ^1H (Figure 62) montre quatre signaux de protons anomériques à δ_{H} 4.71 ppm (d, $J = 7.7$ Hz), 4.54 ppm (d, $J = 7.8$ Hz), 4.53 ppm (d, $J = 7.6$ Hz) et 4.41 ppm (d, $J = 6.6$ Hz), qui corrélient sur le spectre HSQC avec quatre carbones à δ_{C} 103.0, 103.4, 105.9 et 104.2 ppm, respectivement (Figure 72). L'analyse des spectres COSY, HSQC et HMBC, permet d'identifier les quatre sucres comme suit :

- un α -L-arabinopyranosyle dont le proton anomérique résonne à δ_{H} 4.41 ppm (d, $J = 6.6$ Hz, Ara)
- deux β -D-glucopyranosyles dont les protons anomériques résonnent à δ_{H} 4.71 ppm (d, $J = 7.7$ Hz, Glc-I) et δ_{H} 4.54 ppm (d, $J = 7.8$ Hz, Glc-II).
- un β -D-xylopyranosyle dont le proton anomérique résonne à δ_{H} 4.53 ppm (d, $J = 7.6$ Hz, Xyl).

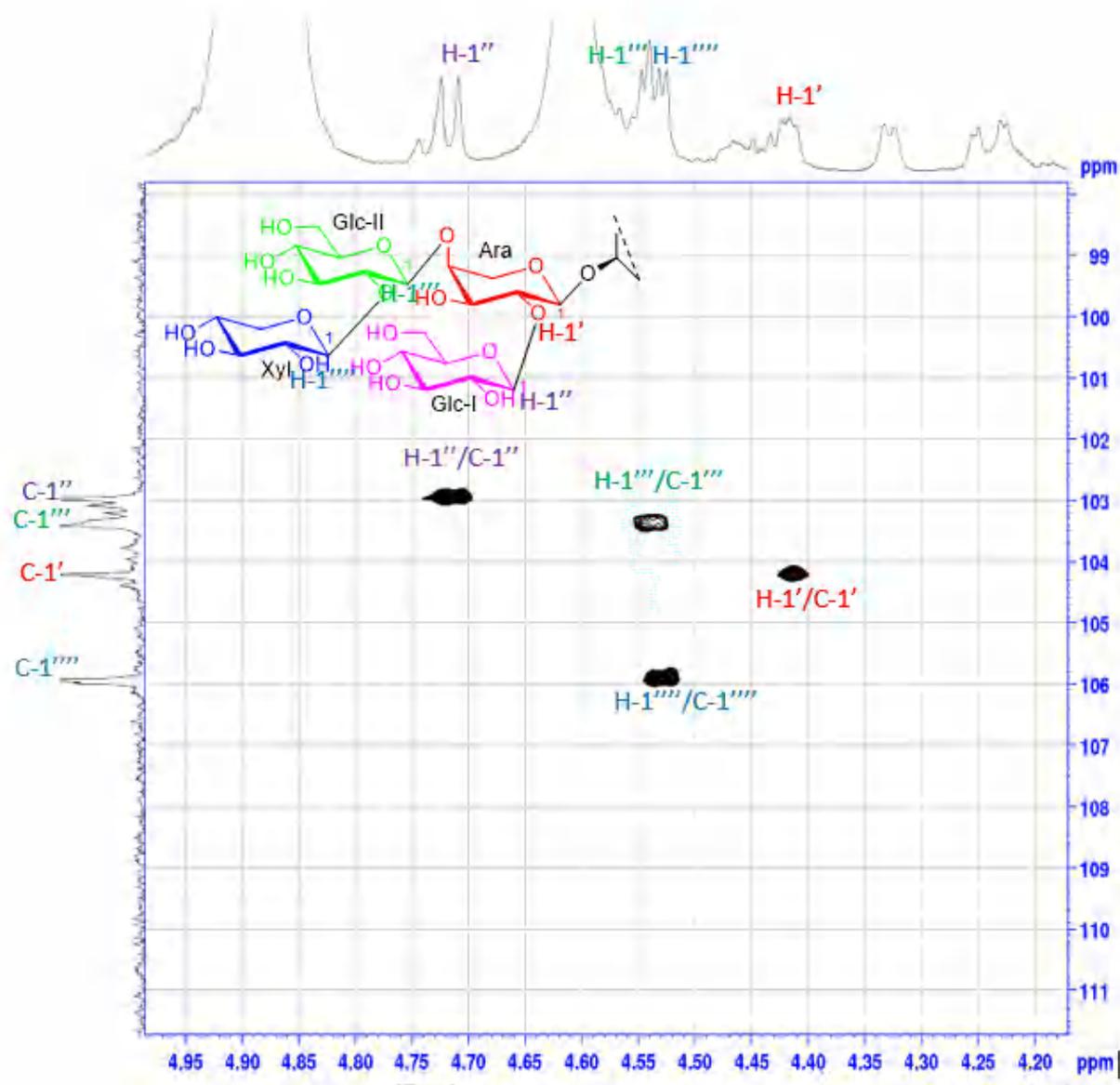


Figure 72 : Spectre HSQC des protons anomériques du composé **Am 1**.

- Analyse du spectre COSY de la partie osidique du composé **Am 1**

L'analyse des corrélations observées sur le spectre COSY (Figure 73) à partir du doublet anomérique H-1' (δ_H 4.41) nous indique la présence d'un hexose dont le proton H-2' résonne sous forme d'un multiplet à δ_H 3.82 ppm qui corrèle avec le proton H-3' à δ_H 3.81 ppm sous forme d'un multiplet. Ce dernier présente une corrélation avec le proton H-4' résonant à δ_H 3.90 ppm sous forme d'un multiplet et enfin le proton H-4' corrèle avec un des protons H_b-5' (δ_H 4.23) qui corrélient entre eux H_b-5'/H_a-5' (δ_H 3.55).

Au spectre COSY (Figure 73), le proton H-1' couple avec le proton H-2' avec une constante de couplage $^3J = 6.6$ Hz indique que les 2 protons sont axiaux. Les petites taches de corrélation de

H-3'/H-4' et H-4'/H_b-5' avec une constante de couplage $J_{H-4'/H_b-5'} = 3.8$ Hz indiquent que le proton H-4' est équatorial. Ces données permettent de suggérer la présence d'un α -L-arabinopyranosyle (Ara). La comparaison des déplacements chimiques (δ_C) des carbones correspondants à ces protons avec ceux dans la littérature confirme la présence d'un α -L-arabinopyranosyle (Alabdul Magid *et al.*, 2005). Les valeurs des déplacements chimiques de ses carbones, attribués après analyse du spectre HSQC montrent un déblindage de C-2' et C-4' suggérant une substitution en positions 2' et 4' de cet arabinose.

Dans le spectre COSY (Figure 73) le proton anomérique H-1'' à δ_H 4.71 ppm est corrélé avec le proton H-2'' qui résonne sous la forme d'un doublet de doublets à δ_H 3.21 ppm ($J=8.9, 7.7$ Hz), lui-même corrélé avec le proton H-3'' situé à δ_H 3.39 (t, $J=9.3$ Hz). Le proton H-4'' à δ_H 3.19 ppm (t, $J=9.2$ Hz) est corrélé avec le proton H-3 et un proton H-5'' qui résonne à δ_H 3.29 ppm (m). Ce dernier corrèle avec les deux protons géminés Ha-6'' (δ_H 3.62, dd, $J= 12.0, 6.7$ Hz) et Hb-6'' (δ_H 3.86, dd, $J= 12.0, 2.0$ Hz). Les constantes de couplage entre tous les protons de cette unité osidique sont caractéristiques d'un β -D-glucopyranose (Glc-I).

Le proton anomérique H-1''' à δ_H 4.54 ppm est corrélé avec le proton H-2''' situé à δ_H 3.41 (t, $J= 7.8$ Hz) (Figure 73). Ce dernier corrèle avec le proton H-3''' situé à δ_H 3.57 (t, $J=8.9$ Hz). Le proton H-4''' est localisé à δ_H 3.35 ppm et le proton H-5''' résonne à δ_H 3.30 ppm. Ce dernier corrèle avec les deux protons géminés Ha-6''' (δ_H 3.69, dd, $J= 12.4, 6.2$ Hz) et Hb-6''' (δ_H 3.88, d, $J= 12.4$ Hz). Les constantes de couplage entre tous les protons de cette unité osidique sont caractéristiques d'un β -D-glucopyranose (Glc-II). Les valeurs des déplacements chimiques de ses carbones, attribuées après analyse du spectre HSQC montrent un déblindage de C-2''' suggérant une substitution en position 2''' de ce glucose (Glc-II) (Tableau 23).

Dans le spectre COSY (Figure 73) le proton anomérique H-1'''' à δ_H 4.53 ppm ($J=7.6$ Hz) est corrélé avec le proton H-2'''' situé à δ_H 3.27 (dd, $J= 8.7, 7.6$ Hz). Ce dernier corrèle avec le proton H-3'''' situé à δ_H 3.39 sous forme multiplet. Le proton H-4'''' est situé à δ_H 3.54 ppm corrélé avec les deux protons géminés Ha-5'''' et Hb-5'''' à δ_H 3.32 (m) et δ_H 4.01 (dd, $J= 11.3, 5.2$ Hz). Le déplacement chimique de C-1'''' à 105.9 ppm et les constantes de couplage entre tous les protons de cette unité osidique sont caractéristiques d'un β -D-xylopyranose (Xyl).

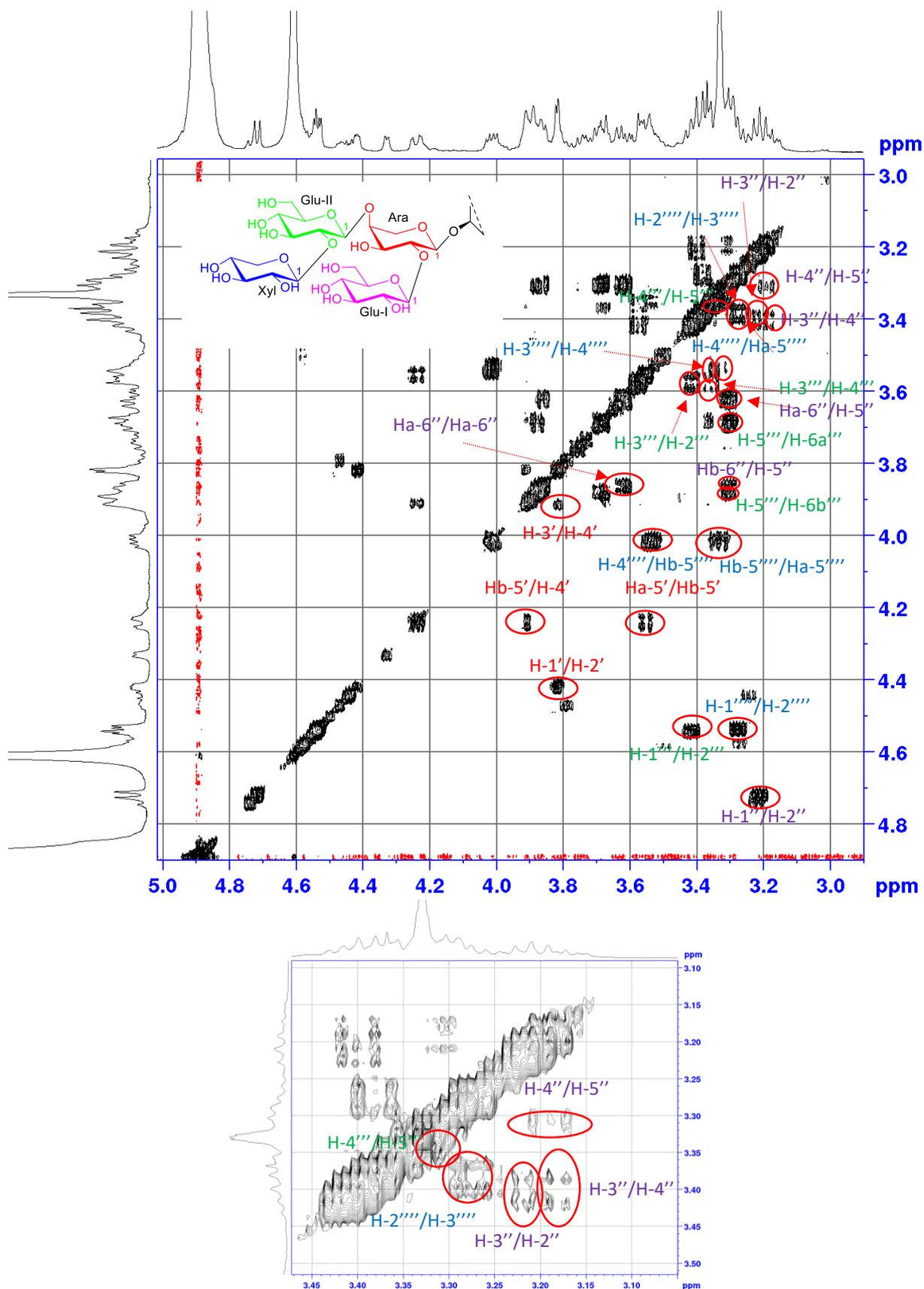


Figure 73 : Spectre COSY de la partie osidique du composé Am 1

- Analyse du spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 1

Tous les carbones osidiques sont attribués (Figure 75) à partir des protons déjà identifiés grâce aux corrélations observées sur les spectres COSY (Figure 73). Les quatre carbones anomériques sont repérés à l'aide de corrélations hétéronucléaires $^1\text{J}_{\text{H-C}}$ observées sur le spectre HSQC (Figure 72). Les quatre carbones résonants entre 103-106 ppm.

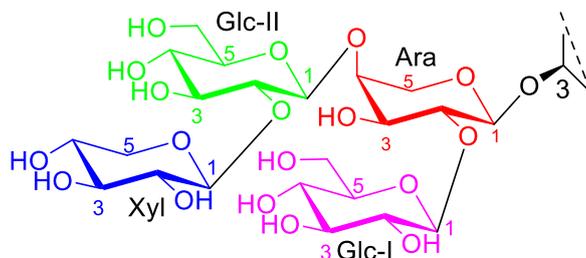


Figure 74 : L'enchaînement de la partie osidique du composé Am 1.

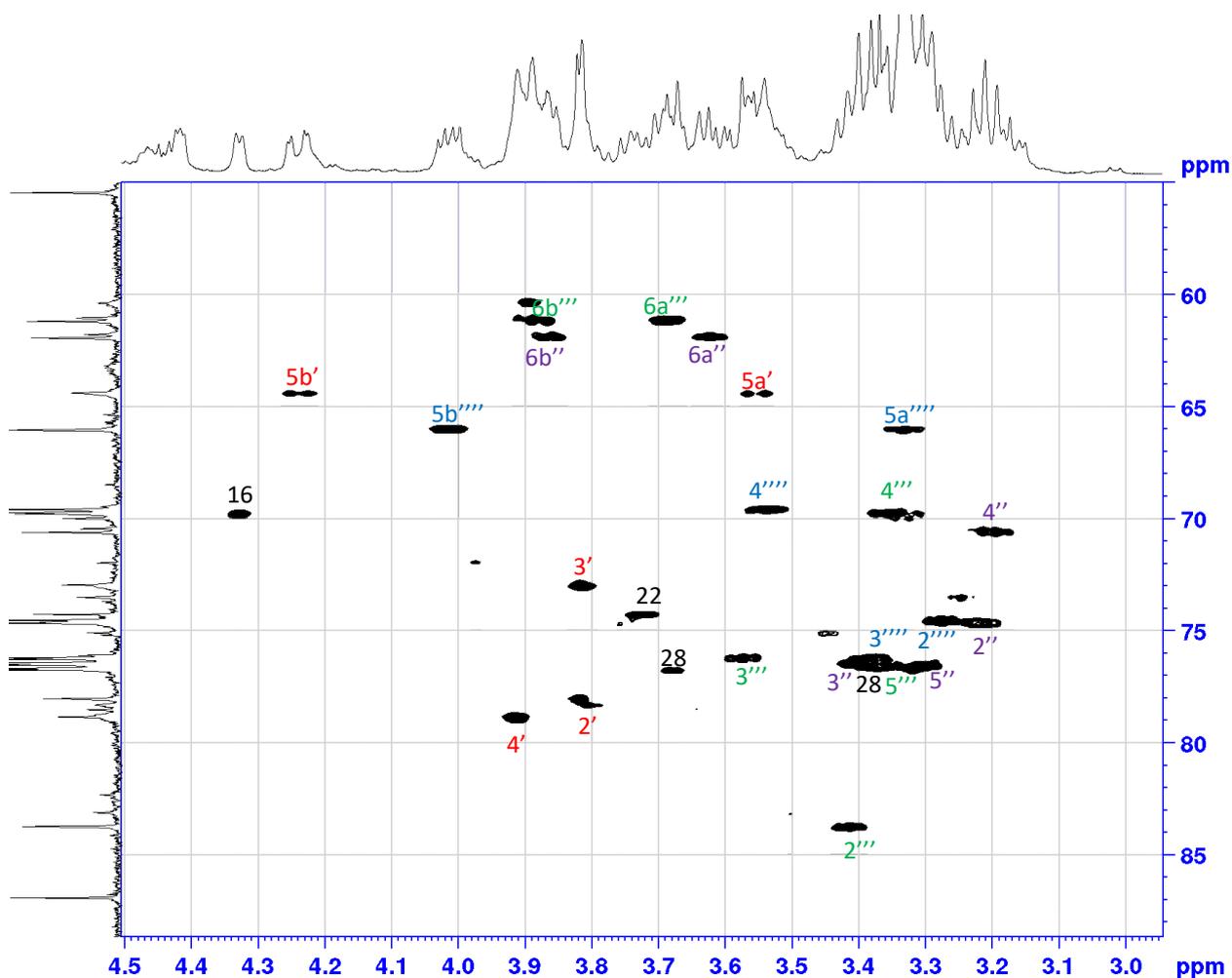


Figure 75 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 1.

- Analyse du spectre HMBC de la partie osidique du composé **Am 1**

Les corrélations $^3J_{H-C}$ observées sur le spectre HMBC (Figure 76) à partir de chaque proton anomérique permettent d'élucider l'enchaînement des unités osidiques ainsi que le point d'ancrage des sucres sur la génine.

- La corrélation entre le proton H-1' (δ_H 4.41 ppm) de l'arabinose (**Ara**) et le carbone C-3 (δ_C 90.0 ppm) de la Priverogénine B montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.

- Le proton H-1'' (δ_H 4.71 ppm) du glucose (**Glc-I**) corrèle avec le carbone C-2' (δ_C 78.0 ppm) de l'arabinose (**Ara**) lié à la génine en position 3.

- Le proton H-1''' (δ_H 4.54 ppm) du glucose (**Glc -II**) corrèle avec le carbone C-4' (δ_C 78.8 ppm) de l'arabinose (**Ara**) lié à la génine en position 3.

- Le proton H-1'''' (δ_H 4.53 ppm) du xylose (**Xyl**) corrèle avec le carbone C-2''' (δ_C 83.7 ppm) du glucose (**Glc -II**) lié à la l'arabinose en position 4.

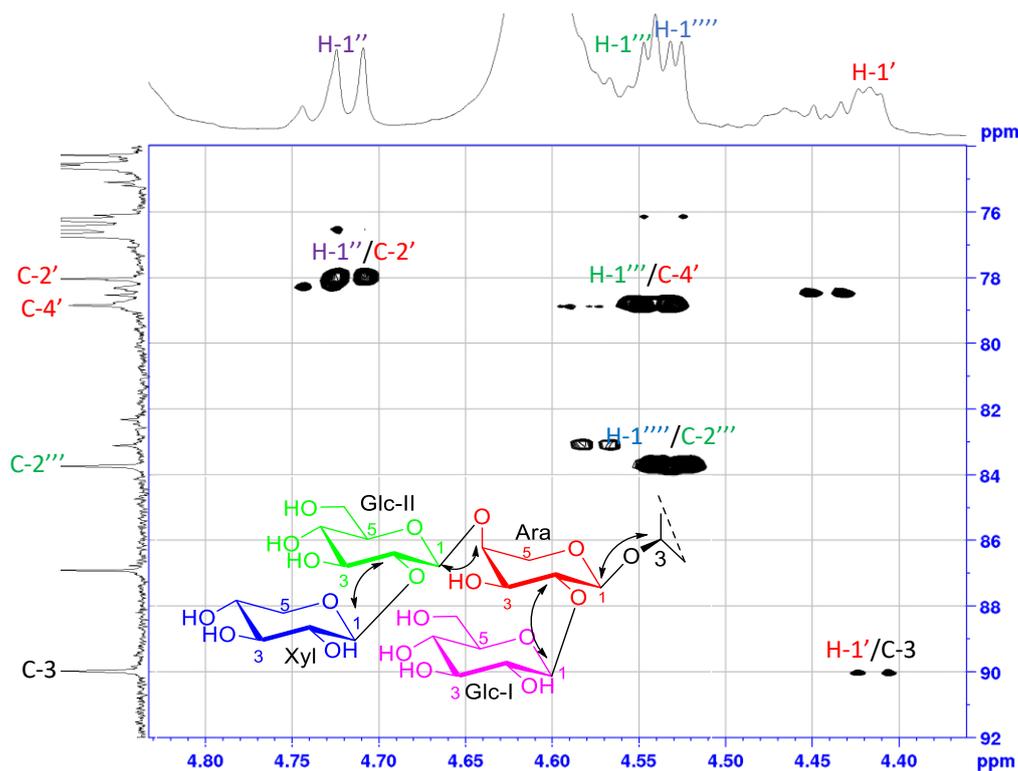


Figure 76 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé **Am 1**.

La structure finale du composé **Am 1** est établie comme étant le 3-O- β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3 β ,16 α ,22 α -triol, un nouveau composé naturel nommé **Monelloside A**.

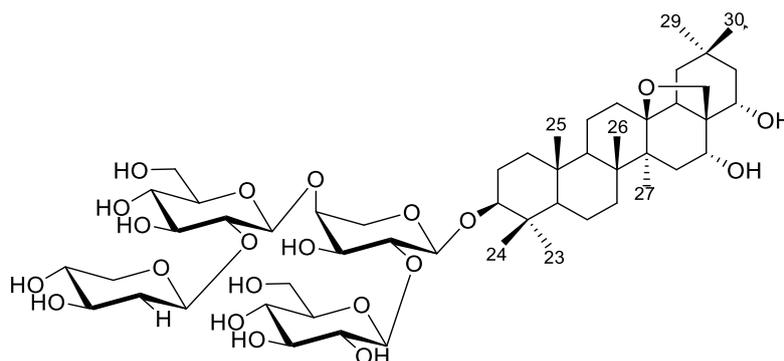


Tableau 23: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 1** dans CD_3OD .

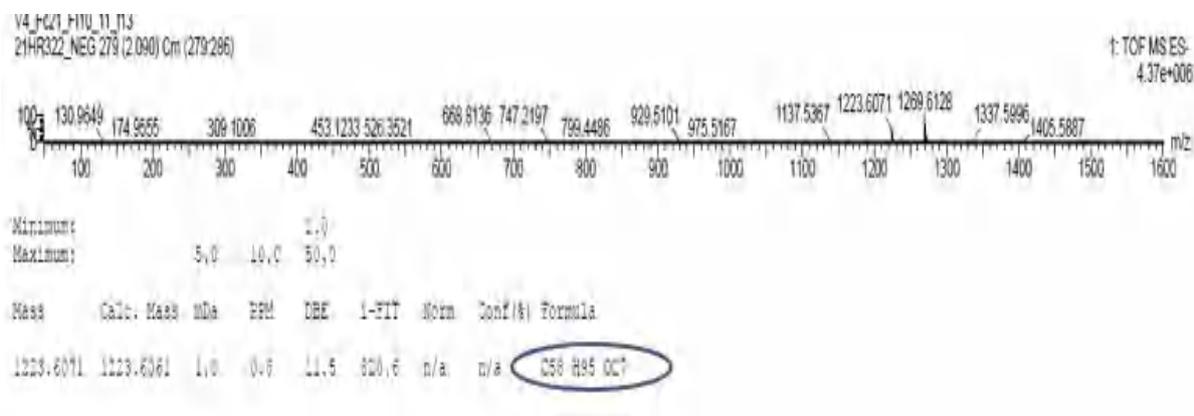
Position	1		Position	1	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.8	0.98 m	Ara		
		1.77 m	1'	104.2	4.41 d (6.6)
2	25.8	1.76m	2'	78.0	3.82 m
		1.88m			
3	90.0	3.16 dd (11.7, 4.3)	3'	72.9	3.81 m
4	39.2	–	4'	78.8	3.90 m
5	55.4	0.74 dd (9.4, 4.5)	5'	78.8	3.55 dd (12.5, 3.8)
					4.23 dd (12.5, 2.8)
6	17.4	1.47 m	Glc I		
			1.54 m	1''	103.0
7	33.7	1.26 t (13.4)	2''	74.6	3.21 dd (8.9, 7.7)
		1.56 m			
8	42.1	–	4''	70.6	3.19 t (9.2)
9	50.0	1.28 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.4	–	6''	61.9	3.62 dd (12.0, 6.7)
					3.86 dd (12.0, 2.0)
11	18.5	1.49 m	Glc II		
		1.64 dd (12.5,4.4)	1'''	103.4	4.54 d (7.8)
12	32.1	1.31 m	2'''	83.7	3.41 t (7.8)
2.06 m					
13	86.9	–	3'''	76.2	3.57 t (8.9)
14	44.5	–	4'''	69.7	3.35 m
15	35.5	1.28 m	6'''	61.2	3.69 dd (12.4, 6.2)
		2.09 m			3.88 d (12.4)
16	69.8	4.33 d (5.0)	Glc III		
17	49.1	–	1''''		
18	50.7	1.47 dd (14.0, 2.5)	2''''		
19	37.6	1.15 m			
20	32.5	2.46 dd (14.1, 12.3)	3''''		
		–			

Tableau 23 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 1** dans CD_3OD

21	44.7	1.40 dd (12.3, 4.9) 2.20 t (12.3)	4''''		
			5''''		
22	74.2	3.74 dd (11.6, 4.9)	6''''		
23	27.0	1.08 s	Xyl		
24	15.3	0.87 s	1''''''	105.9	4.53 d (7.6)
25	15.3	0.92 s	2''''''	74.5	3.27 dd (8.7, 7.6)
26	17.4	1.17 s	3''''''	76.5	3.39 m
27	18.7	1.28 s	4''''''	69.6	3.54 m
28	76,7	3.67 m	5''''''	66.0	3.32 m
					4.01 dd (11.3, 5.2)
29	32.3	1.00 s			
30	24.6	0.98 s			

III.1.2.2. Elucidation structurale du composé Am 2

Le spectre de masse haute résolution du composé **Am 2** a été obtenu en HR-ESI-MS mode négatif (Figure 77) et montre un pic pseudomoléculaire à m/z 1223.6071 $[\text{M-H}]^-$ (calc 1223.6061) correspondant à la formule brute $\text{C}_{58}\text{H}_{95}\text{O}_{27}$.

**Figure 77 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 2**

- Analyse du spectre de RMN ^1H du composé Am 2

L'analyse du spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 2** (Figure 78), nous suggère la présence d'un squelette triterpénique et une partie osidique présentant une similitude avec **Am 1**, cela est mis en évidence par l'observation des mêmes signaux, excepté certains qui sont relatifs à la partie osidique où on note la présence des signaux supplémentaires correspondant à un glucose (Glc-III) lié en position C-4 de Glc-II.

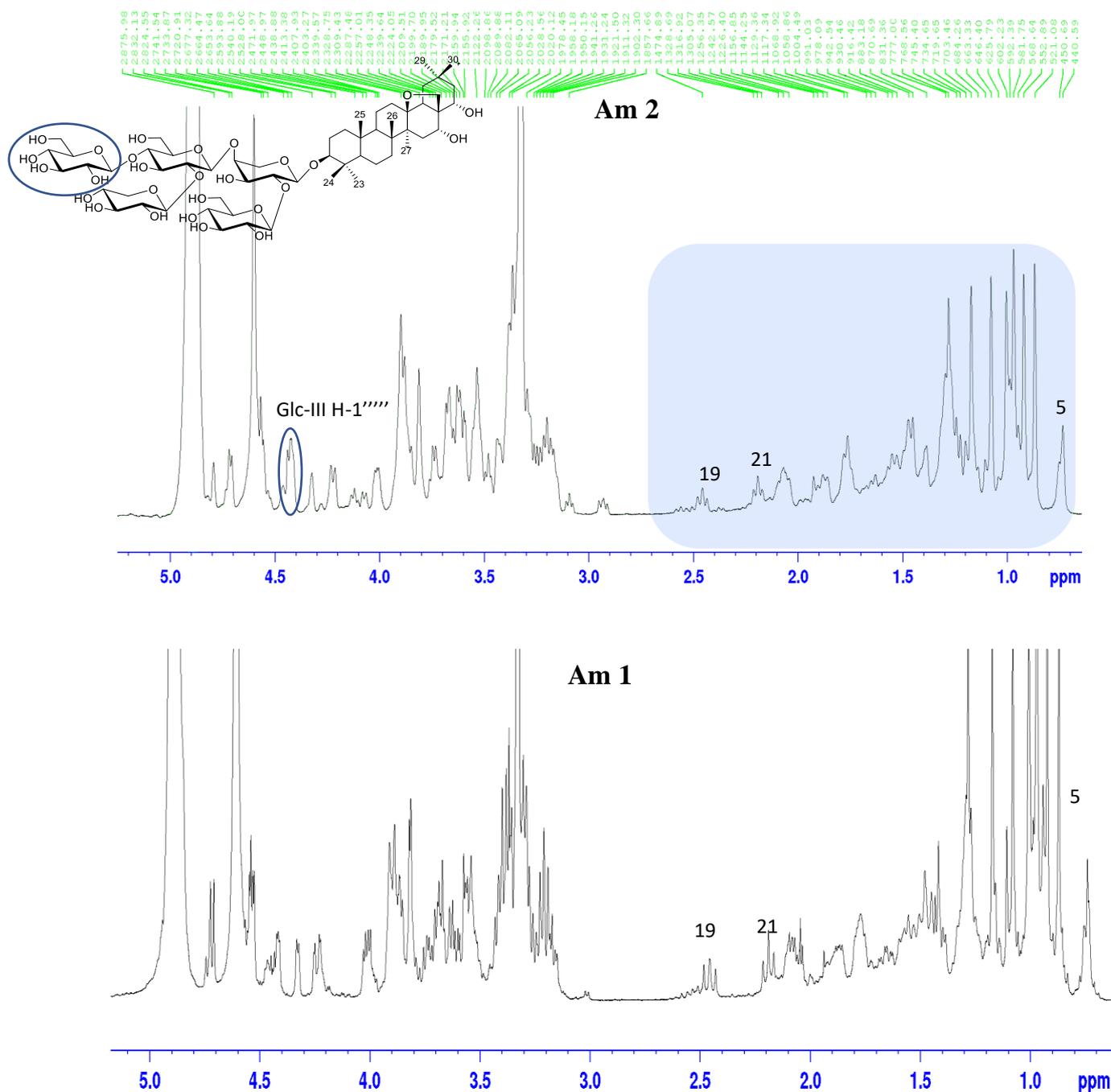


Figure 78 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **Am 2**

- Analyse du spectre de RMN ^{13}C du composé **Am 2**

Le spectre de RMN ^{13}C de **Am 2** (Figure 79) présente des carbones avec des déplacements chimiques proches de ceux identifiés sur celui du **Am 1**. Cependant quelques différences ont été constatées dans la partie osidique dues à la présence d'un troisième glucose (Glc-III) (Tableau 24) repéré par l'apparition du signal du carbone anomérique lié à C-4 de (Glc-II) induisant le déblindage de ce dernier à δc 78.5 ppm (Figure 79).

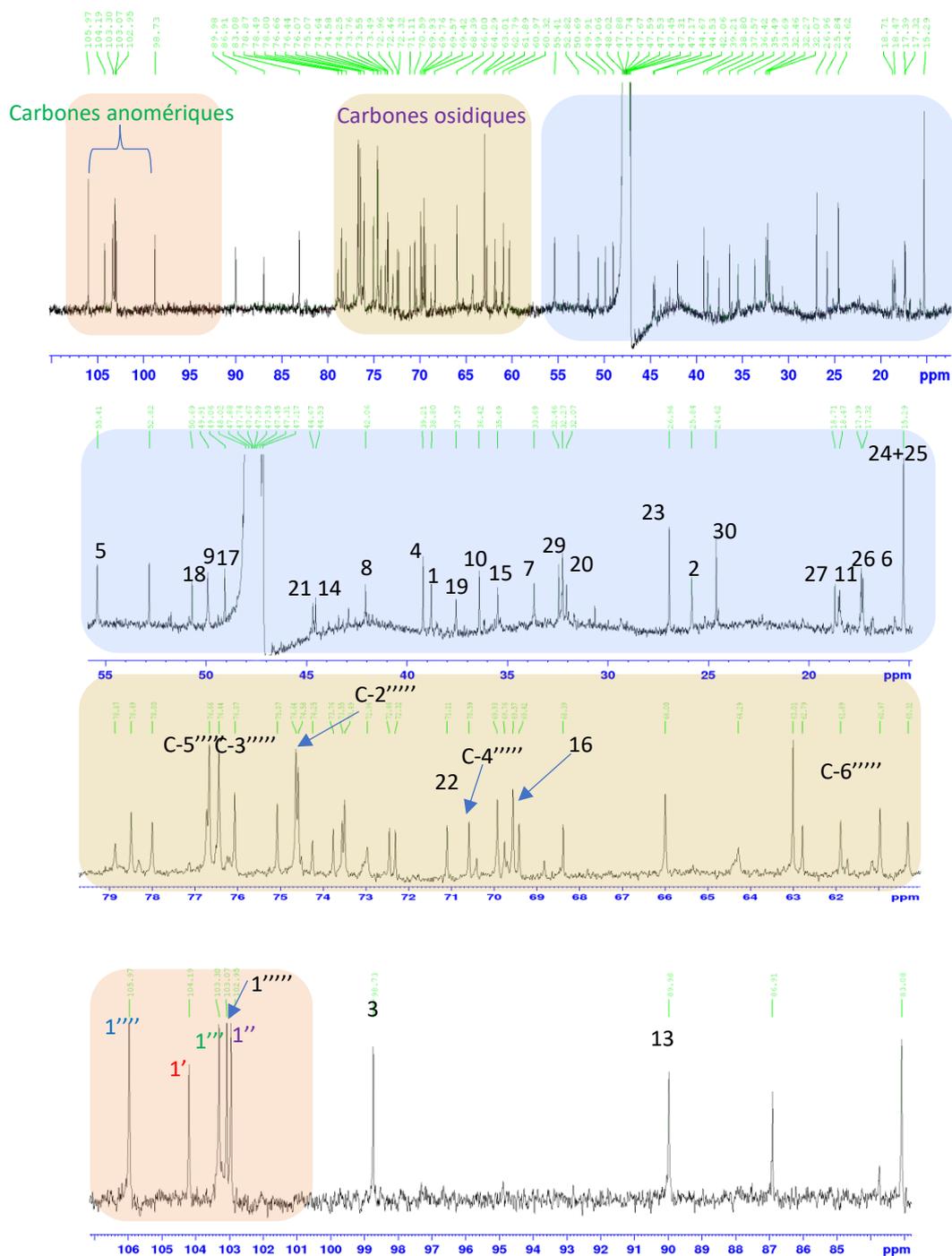


Figure 79 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 2**

- Identification de la partie aglycone

L'analyse combinée des spectres COSY, HSQC, HMBC (Figures 80-82) de cette molécule, montre clairement que les déplacements chimiques des protons et des carbones-13 de la partie aglycone de **Am 2** sont pratiquement identiques à ceux de **Am 1** (Tableau 24).

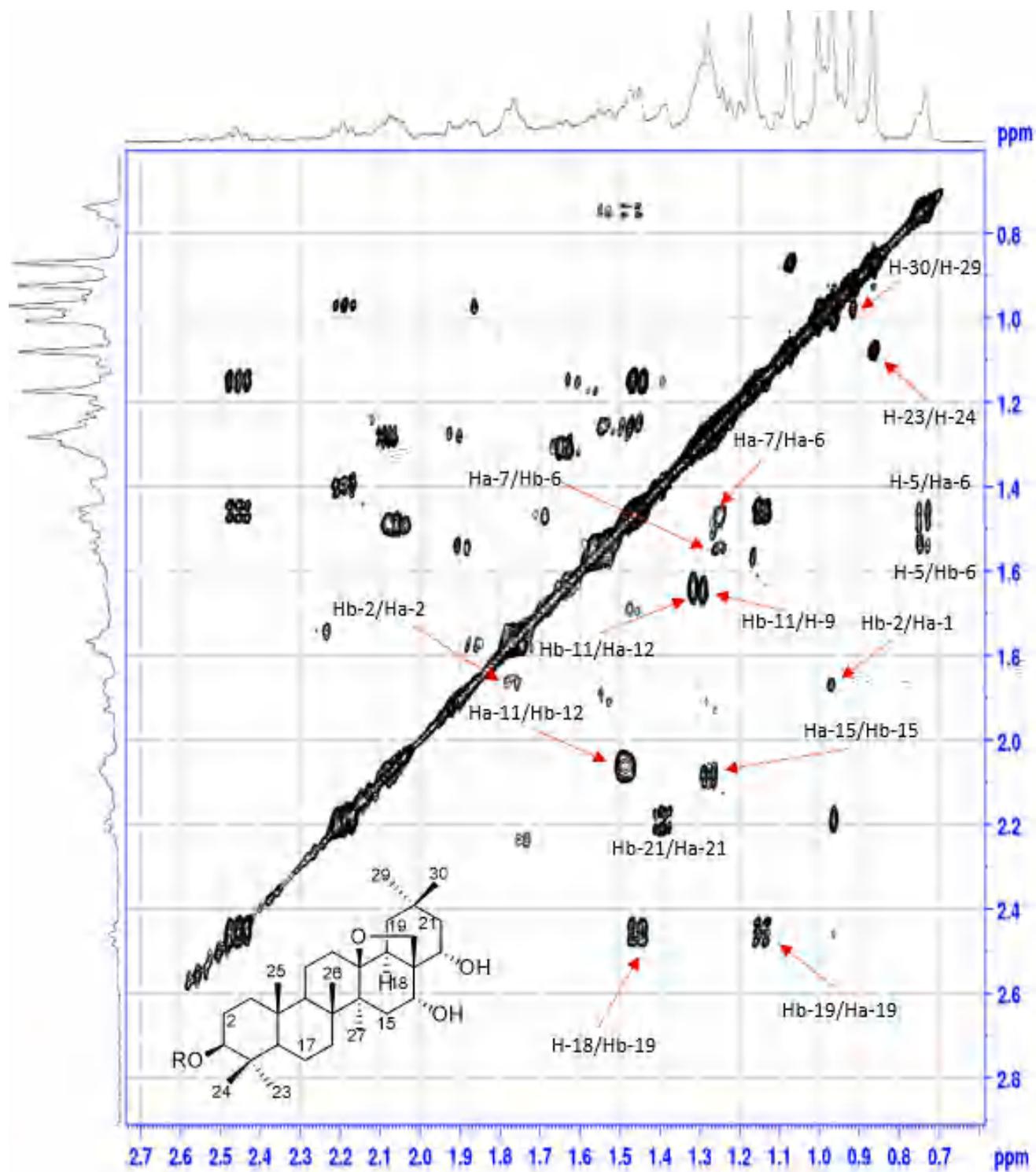


Figure 80 : Spectre COSY dans la partie génine du composé Am 2.

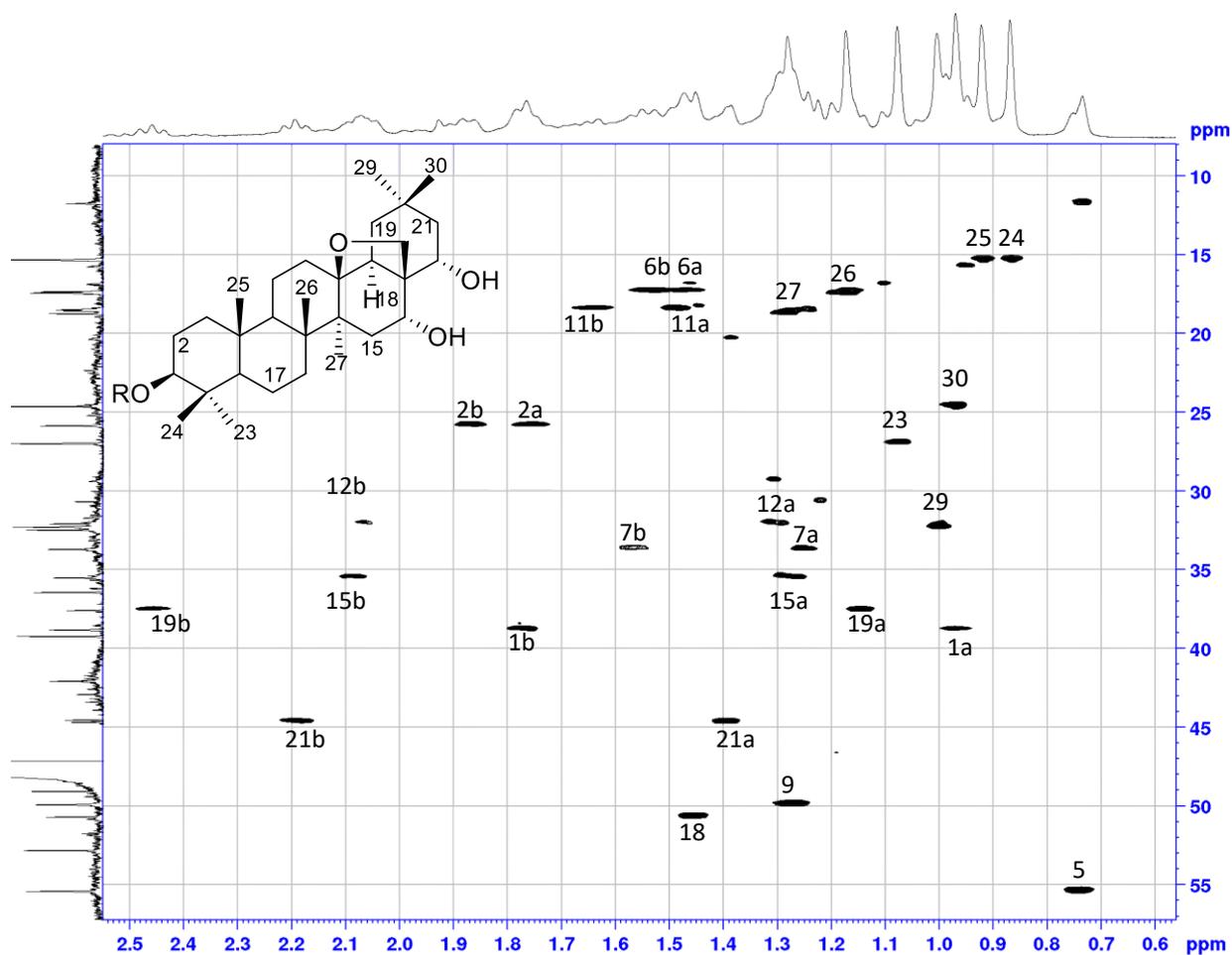


Figure 81a : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 2.

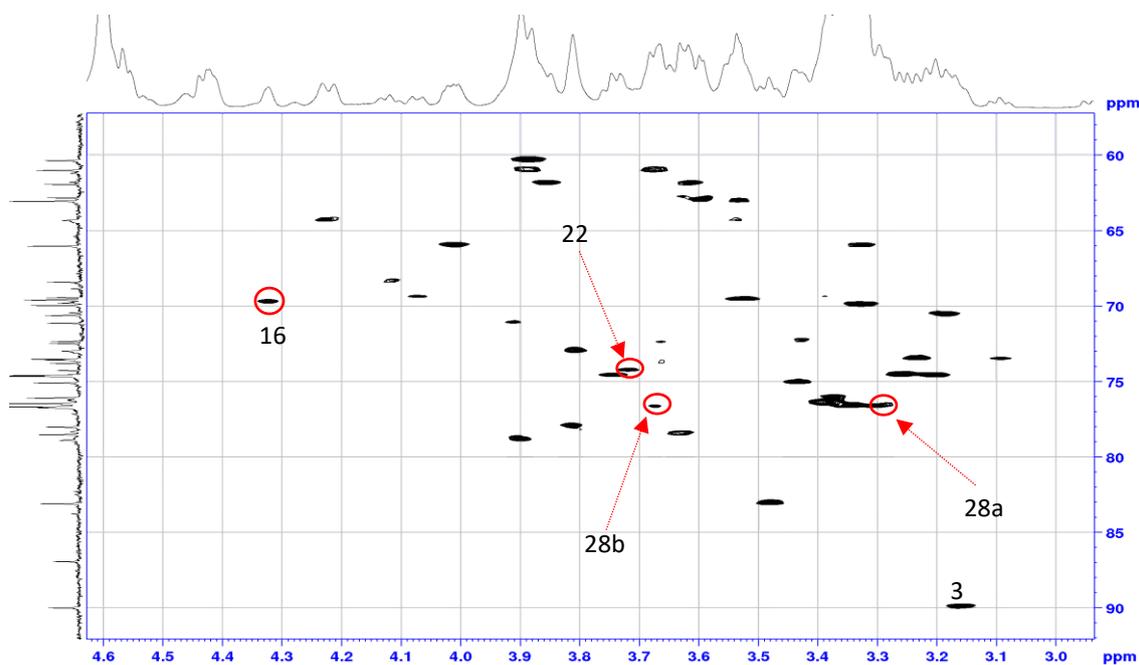


Figure 81b : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 2.

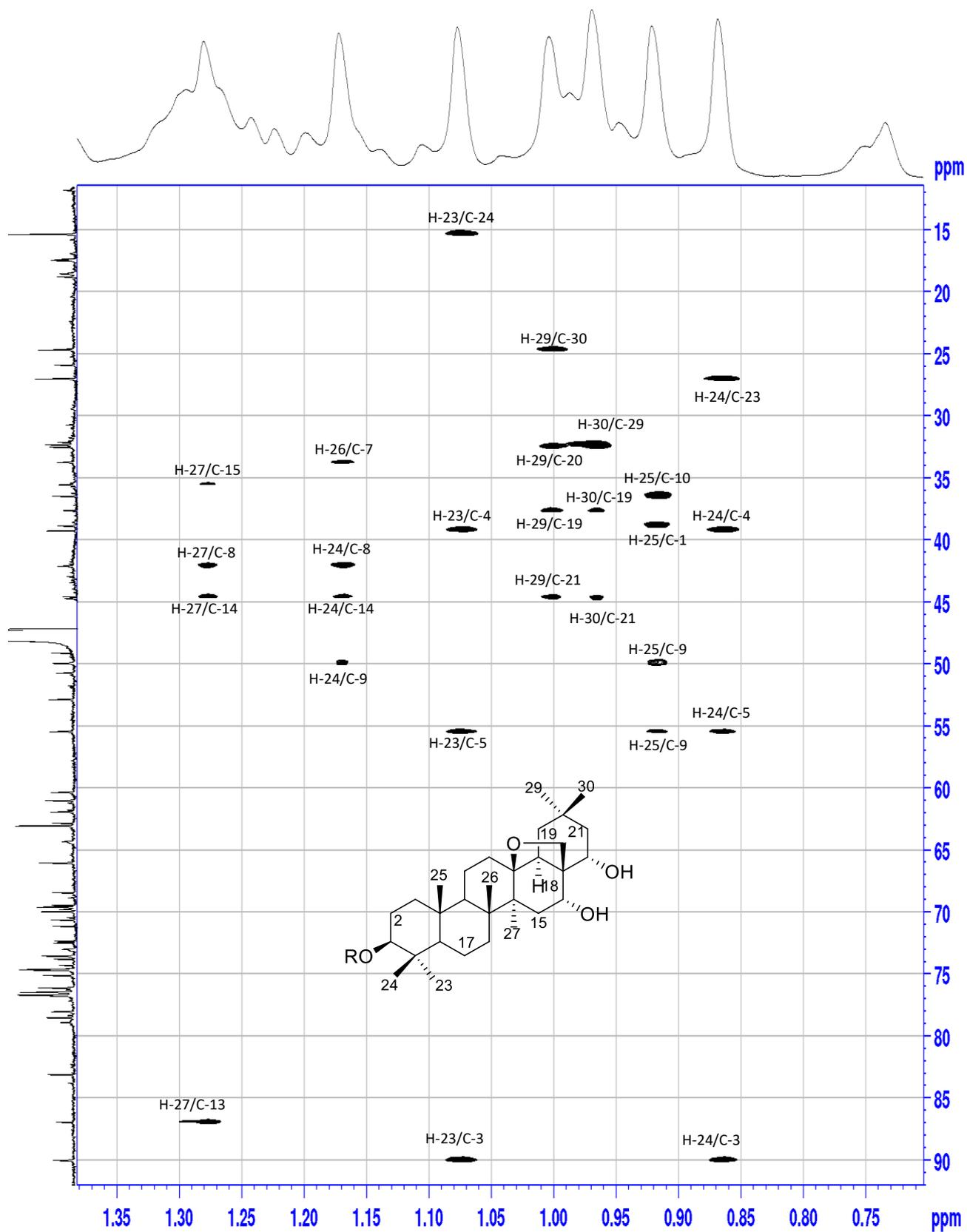


Figure 82 : Spectre HMBC de la partie générale du composé Am 2.

- Analyse du spectre en RMN 1D et 2D de la partie osidique du composé Am 2

Les quatre unités osidiques de **Am 2** sont identifiées grâce à l'analyse complète de RMN 1D et 2D. Et elles sont identiques à celles du composé **Am 1**.

Les carbones de ces sucres sont attribués au moyen du spectre HSQC (Figure 84). En outre, on observe l'apparition de nouveaux signaux correspondant à une 5^{ème} unité osidique.

À partir du doublet anomérique H-1' (δ_H 4.42, d, $J = 6.3$ Hz) sur le spectre COSY (Figure 83), nous indique la présence d'un hexose dont le proton H-2' resonance sous forme d'un multiplet à δ_H 3.82 ppm. Ce dernier corrèle avec le proton H-3' à δ_H 3.81 ppm sous forme d'un multiplet. Le proton H-3' présente une corrélation avec le proton H-4' résonant à δ_H 3.90 ppm sous forme d'un multiplet. À l'aide du spectre HMBC (Figure 85), le proton H-5' sont localisés à δ_H 3.55 ppm depuis sa corrélation avec le carbone C-1'.

Le proton H-4' couple avec les protons géminés Ha-5' (δ_H 3.55, dd, $J = 12.5, 4.2$ Hz) et Hb-5' (δ_H 4.22, d, $J = 12.5$ Hz) sur le spectre COSY (Figure 83). La valeur élevée de constante de couplage entre H-1' indique que ce proton est en position axiale.

Le spectre HMBC (Figure 85) montre une corrélation entre le proton anomérique H-1' à (δ_H 4.42, d, $J = 6.3$ Hz) et le carbone C-3 à δ_C 90.0 ppm, nous indique la localisation d'un α -L-arabinopyranosyle lié à la génine en position 3. La comparaison des déplacements chimiques (δ_C) des carbones à des protons qui les portent avec ceux de la littérature confirme la présence d'un α -L-arabinopyranosyle (Alabdul Magid., 2005).

Les valeurs des déplacements chimiques de ses carbones, attribuées après analyse du spectre HSQC montrent un déblindage de C-2' et C-4' suggérant une substitution en position 2' et 4' de cet arabinose.

A partir du proton anomérique H-1'' à δ_H 4.71 ppm du spectre COSY on a identifié les protons en position rrrH-2'', H-3'', H-4'', H-5'' et H_{a-b}-6'' grâce aux différentes corrélations entre eux. Le spectre HSQC a permis d'attribuer tous les carbones reliés respectivement à ces protons. Toutes ces données spectrales sont très similaires à celles de Glc-I de **Am 1**.

La jonction de Glc-I de **Am 2** sur l'arabinose en H-2' est confirmée par le spectre HMBC à travers la corrélation du proton H-1'' à δ_H 4.71 ppm en C-2' à δ_C 78.0 ppm.

Le proton anomérique H-1''' à δ_H 4.57 ppm est corrélié avec le proton H-2''' situé à δ_H 3.48 (t, $J = 7.9$ Hz). Ce dernier corrèle avec le proton H-3''' situé à δ_H 3.75 (t, $J = 9.0$ Hz). Le proton H-4'''

est localisé à δ_H 3.63 ppm (t, $J=8.9$ Hz) est couplé avec le proton H-3''' d'une part et avec le proton H-5''' qui résonne à δ_H 3.44 ppm. D'autre part le proton H-5''' corrèle avec les deux protons géminés Ha-6''' (δ_H 3.89 ppm) et Hb-6''' (δ_H 3.88 ppm).

Les constantes de couplage entre tous les protons de cette unité osidique sont caractéristiques d'un β -D-glucopyranose.

Les valeurs des déplacements chimiques de ses carbones attribués après analyse du spectre HSQC montrent un deblindage de C-2''' et C-4''' suggérant une substitution en position 2''' et C-4''' de ce glucose (Glc-II) (Tableau 24). Par ailleurs, le proton anomérique H-1''' situé à δ_H 4.57 corrèle avec le carbone C-4' à δ_C 78.8 ppm sur le spectre HMBC confirmant la liaison de Glc-II au sucre α -L-arabinosyle en position C-4'.

Le proton anomérique H-1'''' à δ_H 4.56 ppm ($J=7.8$ Hz) corrèle avec le proton H-2'''' situé à δ_H 3.26 (t, $J=7.8$ Hz). Ce dernier corrèle avec le proton H-3'''' situé à δ_H 3.30 sous forme multiplet. Le proton H-4'''' situé à δ_H 3.52 ppm corrèle avec les deux protons géminés Ha-5'''' et Hb-5'''' à δ_H 3.32 (m) et δ_H 4.01 (dd, $J= 11.5, 5.7$ Hz).

Le spectre HSQC de **Am 2** permet d'attribuer tous les carbones de cette unité osidique, leur déplacements chimiques sont caractéristiques d'un xylopyranose.

A l'aide du spectre HMBC, le proton anomérique H-1'''' montre une corrélation avec C-2''' à δ_C 83.1 ppm de (Glc-II). Ce dernier, nous confirme la présence d'un β -D-xylopyranosyle lié avec le sucre β -D-glucopyranose (Glc-II) en position 2'''.

Le proton anomérique H-1'''' à δ_H 4.43 ppm corrèle avec le proton H-2'''' situé à δ_H 3.24 (t, $J=8.9$ Hz). Ce dernier corrèle avec le proton H-3'''' situé à δ_H 3.37 ppm. Le proton H-4'''' est localisé à δ_H 3.32 ppm et le proton H-5'''' résonne à δ_H 3.30 ppm. Ce dernier corrèle avec les deux protons géminés Ha-6'''' (δ_H 3.62, dd, $J= 10.4, 2.6$ Hz) et Hb-6'''' (δ_H 3.86).

Le spectre HMBC montre une corrélation entre le proton anomérique H-1'''' situé à δ_H 4.43 et le carbone C-4''' à δ_C 78.5 ppm, confirmant la présence d'un β -D-glucopyranose (Glc-III) lié avec le sucre β -D-glucopyranose (Glc-II) en position 4'''.

Le spectre HSQC permet d'attribuer tous les carbones relatifs aux protons identifiés de cette unité osidique et qui sont typiques d'un glucopyranose terminal (Glc-III) confirmant ainsi les données des constantes calculées.

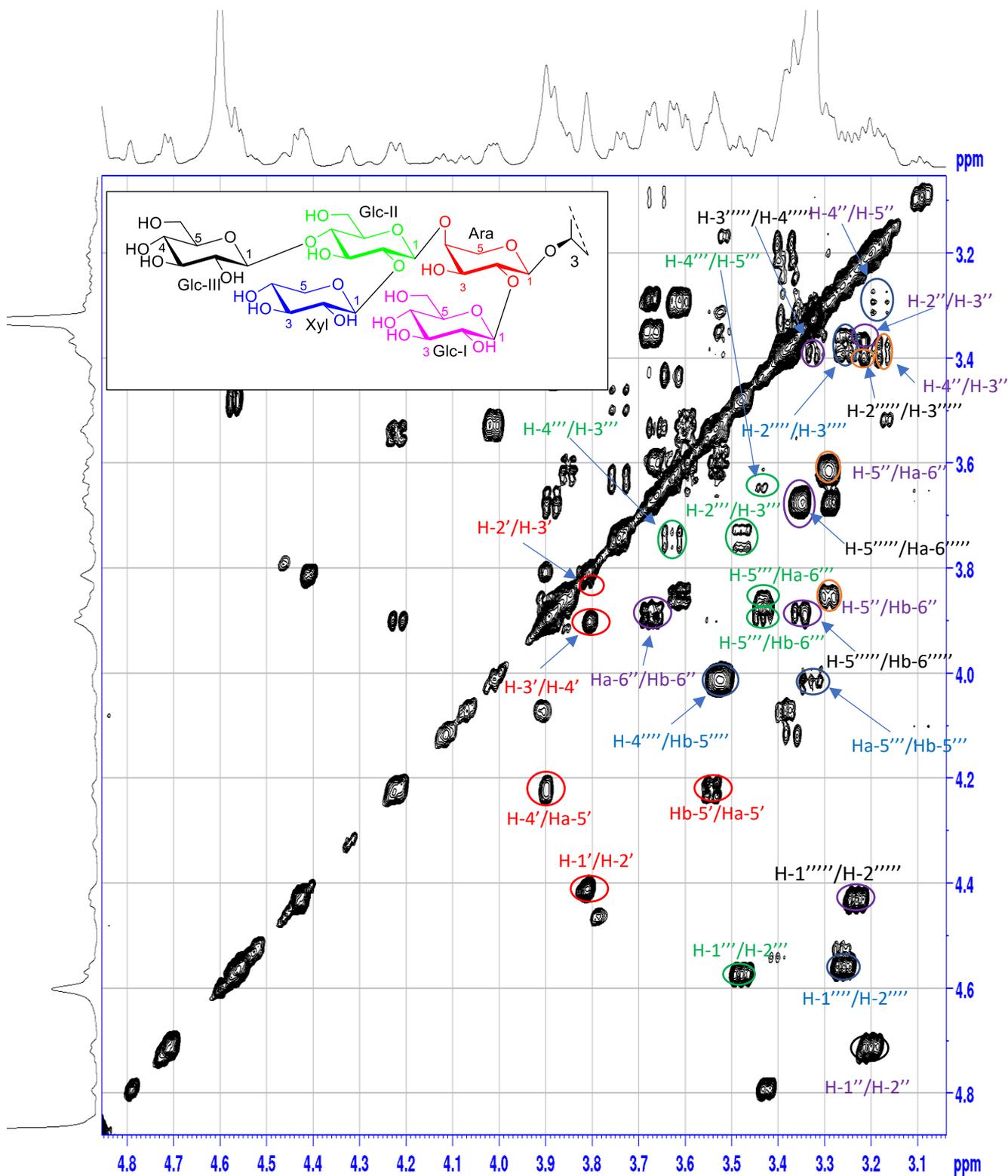


Figure 83 : Spectre COSY de la partie osidique du composé Am 2

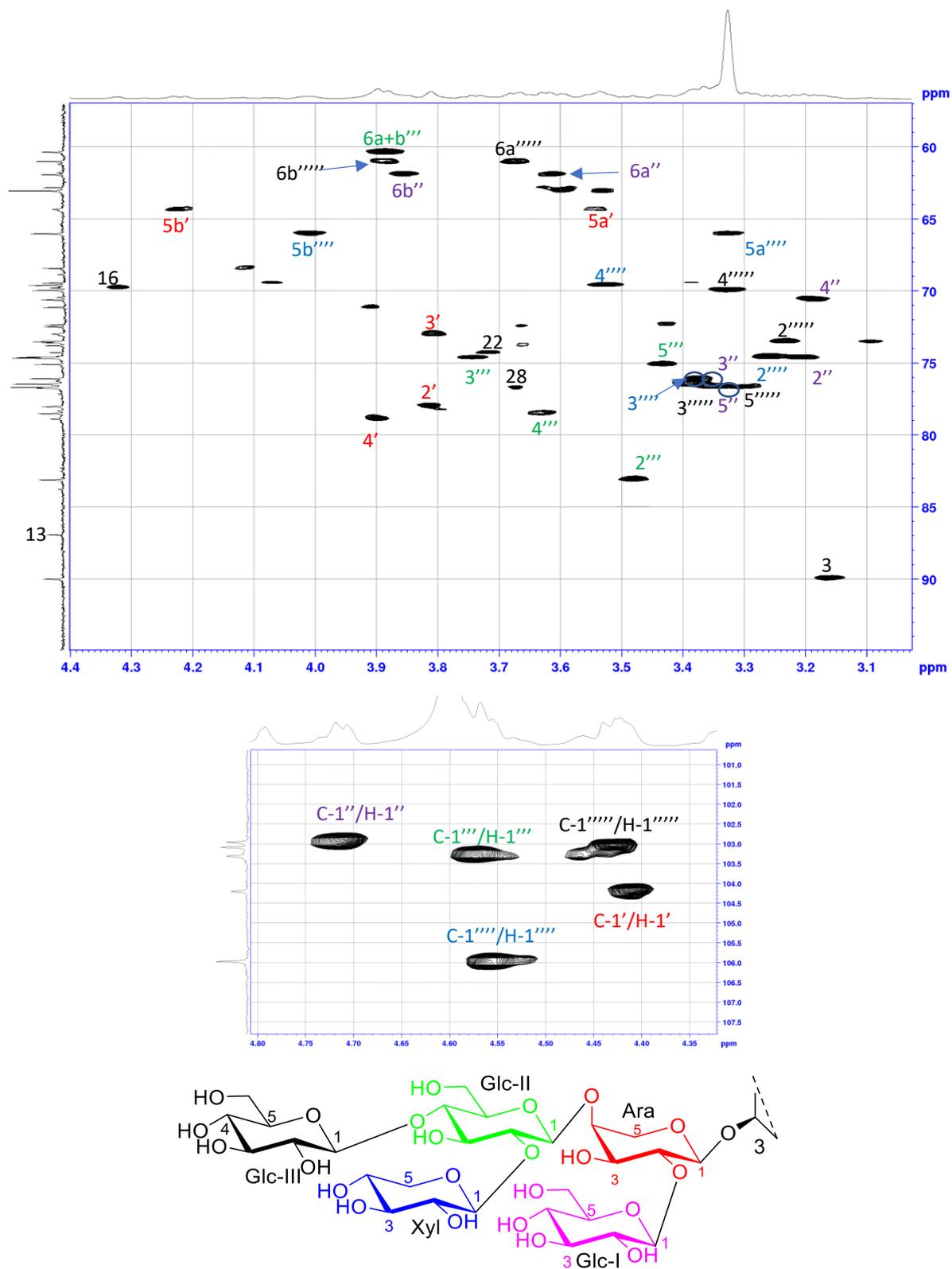


Figure 84 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 2

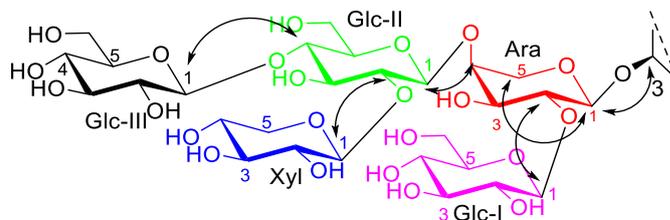
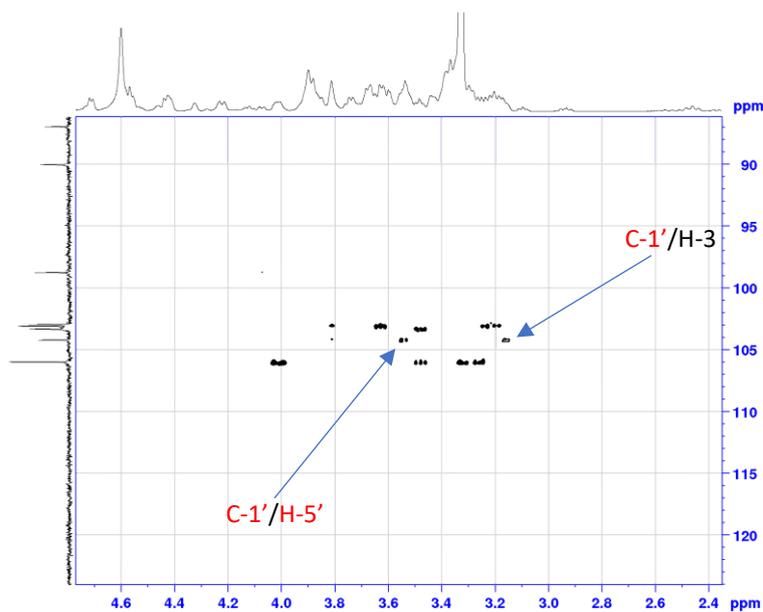


Figure 85 : L'enchaînement de la partie osidique du composé Am 2.

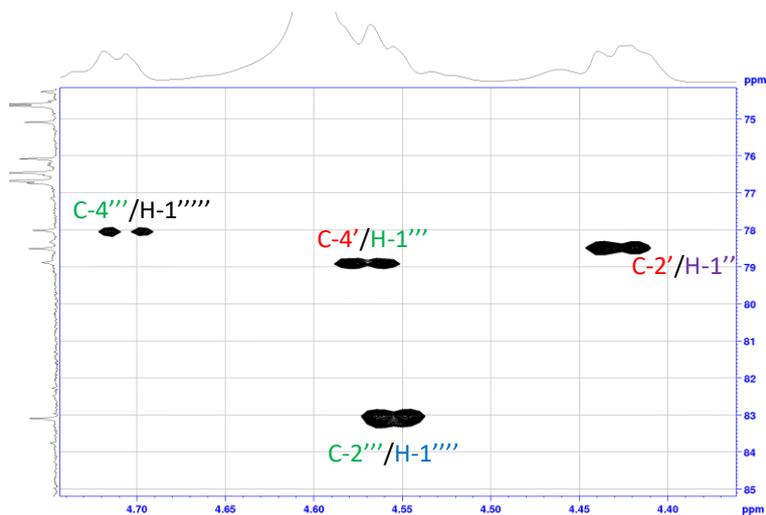


Figure 86 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé Am 2

L'ensemble des données spectroscopiques nous ont conduit à proposer pour ce composé la structure suivante : 3-O-β-D- glucopyranosyl-(1 → 4)[β-D-xylopyranosyl-(1 → 2)]-β-D-

glucopyranosyl-(1→4)-[β-D- glucopyranosyl-(1 →2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3β,16α,22α-triol , nommé **Monelloside B**.

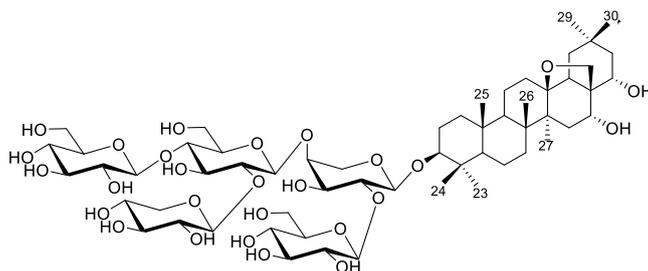


Tableau 24 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 2** dans CD_3OD .

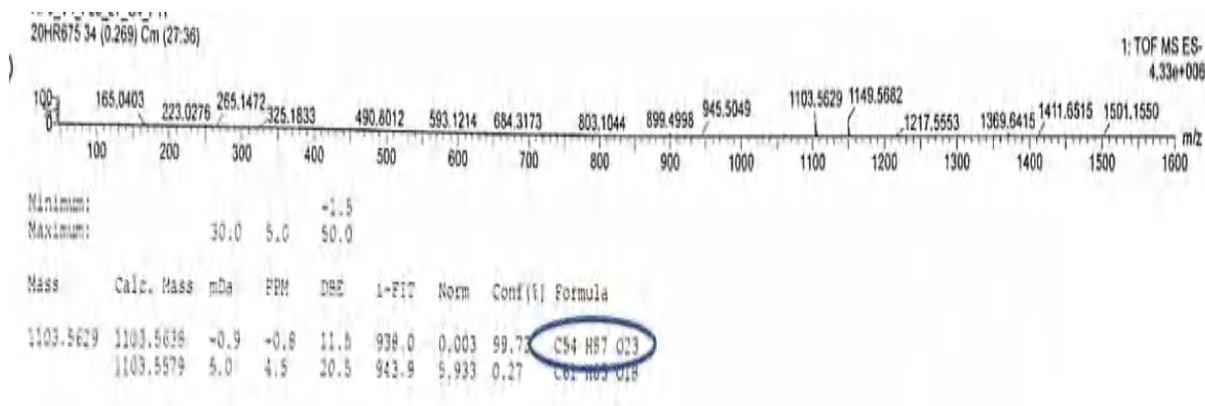
Position	2		Position	2	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.8	0.97 m 1.77 m	Ara		
2	25.8	1.76 m 1.87 m	1'	104.2	4.42 d (6.3)
3	90.0	3.16 dd (11.7, 4.3)	2'	78.0	3.82 m
4	39.2	–	3'	72.9	3.81 m
5	55.4	0.74 dd (11.3, .28)	4'	78.8	3.90 m
6	17.3	1.46 m 1.54 m	5'	64.3	3.55 dm (12.5) 4.22 d (12.5)
7	33.7	1.25 m 1.56 m	Glc I		
8	42.1	–	1''	102.9	4.71 d (7.3)
9	49.9	1.27 m	2''	74.6	3.21 dd (8.9, 7.3)
10	36.4	–	3''	76.4	3.39 m
11	18.5	1.49 m 1.64 dd (12.7, 3.4)	4''	70.6	3.18 t (8.9)
12	32.1	1.31 m 2.06 m	5''	76.7	3.30 m
13	86.9	–	6''	61.9	3.60 dd (11.0, 4.7) 3.86 d (11.0)
14	44.5	–	Glc II		
15	35.5	1.27 m 2.08 m	1'''	103.3	4.57 d (8.8)
16	69.8	4.32 br s	2'''	83.1	3.48 t (9.0)
17	49.1	–	3'''	74.7	3.75 t (9.0)
18	49.1	1.46 dd (12.5, 2.1)	4'''	78.5	3.63 t (8.9)
19	50.7	1.15 m 2.45 dd (13.9, 12.5)	5'''	75.1	3.44 m
20	32.5	–	6'''	60.3	33.89 m 3.88 m
			Glc III		
			1''''	103.1	4.43.d (8.3)
			2''''	73.5	3.24 t (8.9)
			3''''	76.6	3.30 m

Tableau 24 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 2** dans CD_3OD .

21	44.7	1.39 m 2.19 t (11.7)	4''''	69.9	3.32 m
			5''''	76.7	3.37 m
22	74.2	3.72 m	6''''	61.0	3.68 dd (10.4, 2.6) 3.89 m
23	27.0	1.07 s	Xyl		
24	15.3	0.86 s	1''''	105.9	4.56 d (7.8)
25	15.3	0.92 s	2''''	74.6	3.26 t (7.8)
26	17.4	1.17 s	3''''	76.1	3.37 m
27	18.7	1.28 s	4''''	69.6	3.52 m
28	76.7	3.67 m	5''''	66.0	3.32 m 4.01 dd (11.5, 5.7)
29	32.3	1.00 s			
30	24.6	0.96 s			

III.1.2.3. Elucidation structurale du composé Am 3

Le spectre de masse haute résolution du composé **Am 3** a été obtenu en HR-ESI-MS mode négatif (Figure 87) et montre un pic pseudomoléculaire à m/z 1103.5629 $[\text{M-H}]^-$ (calc, 1103.5638) correspondant à la formule brute $\text{C}_{54}\text{H}_{87}\text{O}_{23}$.

**Figure 87 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 3**

- Analyse du spectre de RMN ^1H du composé Am 3

Les composés des spectres de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 1** et **Am 3** (Figure 88), nous suggère la présence d'un squelette triterpénique (anagalligénine B) (Machocho et al., 2003) pour ce dernier avec les mêmes unités osidiques que ceux de **Am 1**, excepté certaines différences relatives à la partie génine où on trouve l'absence du groupement (OH) dans la

position 22 et sa présence en position 23. La présence du groupement acétyle (OAc) lié en position 6" du (Glc-I) est aussi détectée dans la partie osidique.

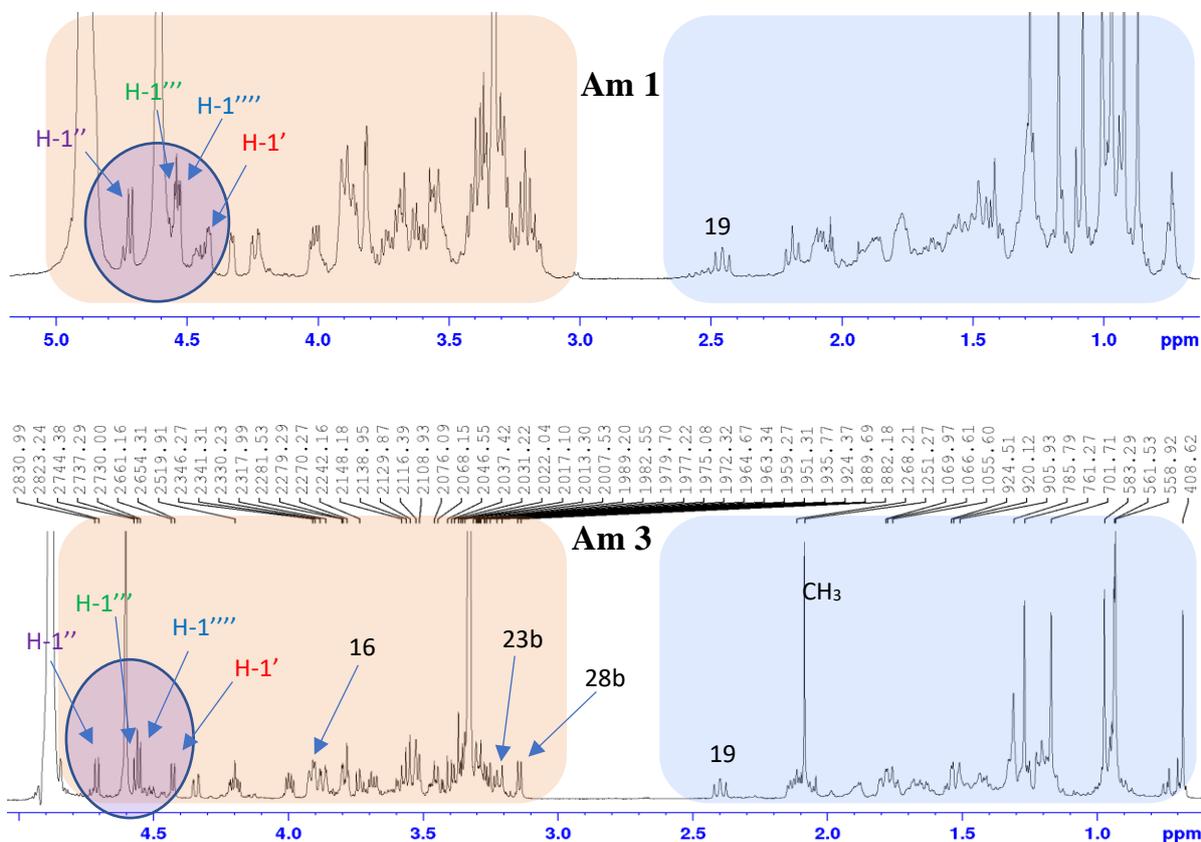


Figure 88 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **Am 3**

- Analyse du spectre de RMN ^{13}C du composé **Am 3**

Le spectre de RMN ^{13}C de **Am 3** (Figure 89) présente des carbones avec des déplacements chimiques proches de ceux identifiés sur celui du **Am 1**. Cependant quelques différences ont été constatées :

- **La partie génine :**
- L'absence du groupement OH en position 22 a permis d'observer un pic plus blindé à δ_{C} 30.8 ppm sur le spectre ^{13}C .
- La présence du groupement OH en position 23 est indiqué par l'apparition d'un pic à δ_{C} 62.9 ppm sur le spectre ^{13}C .
- **La partie osidique :**
- La présence du groupement acétyle en position 6" de glucose (Glc-I) est révélé par la présence d'un pic à δ_{C} 171.5 et à δ_{C} 19.6 ppm sur le spectre ^{13}C .

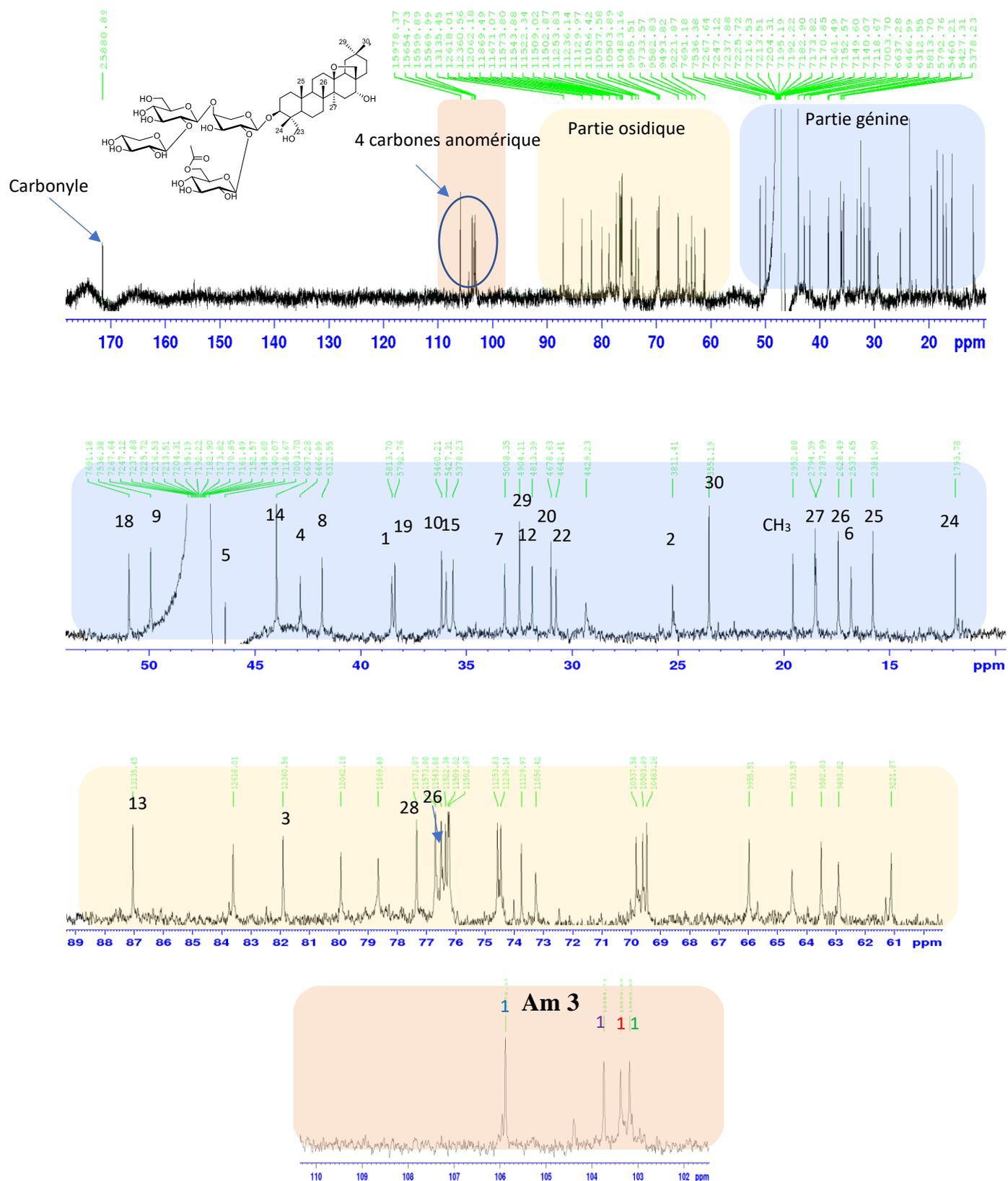


Figure 89 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 3

- Analyse des spectres en 2D du composé Am 3

Parmi les corrélations observées sur les spectres COSY, HSQC et HMBC de **Am 3** (Figures 91- 92 et 95), nous allons évoquer les plus importantes, le reste des corrélations entre les protons et les carbones sont établie de la même façon que celles pour la génine **Am 1**.

Les deux protons géminés H_{a,b}-22 à δ_H 1.52 ppm (td, $J=13.2, 4.4$ Hz) et 1.79 ppm (d, $J=13.2$ Hz) présentent une corrélation avec les deux protons géminés voisins H_{a,b}-21 à δ_H 1.15 et 2.10 ppm sous forme multiplet sur le spectre COSY, ce qui permet de confirmer l'absence du groupement OH sur les deux positions C-21 et C-22.

L'absence du signal de Me-23 observé dans **Am 1** et la présence de 2 signaux correspondant aux deux protons géminés H_{a,b}-23 situés à δ_H 3.21 ppm (d, $J=11.2$ Hz) et 3.79 ppm (d, $J=11.2$ Hz) et qui présentent une corrélation entre eux sur le spectre COSY, indiquent la présence du groupement OH en position 23 de la génine.

Les deux protons géminés H_{a,b}-28 à δ_H 3.14 ppm (d, $J=7.6$ Hz) et 3.52 ppm (d, $J=7.6$ Hz) présentent une corrélation entre eux sur le spectre COSY et le déblindage de ces 2 doublets indique la proximité du méthylène (CH₂) -28 à un oxygène.

Au niveau du proton H-16 situé à δ_H 3.90 ppm sous forme d'un doublet avec une constante de couplage de 4.7 Hz, et corrélant avec H_b-15 à δ_H 2.13 ppm sur le spectre COSY, permet de localiser un groupement OH sur la position 16 de la génine.

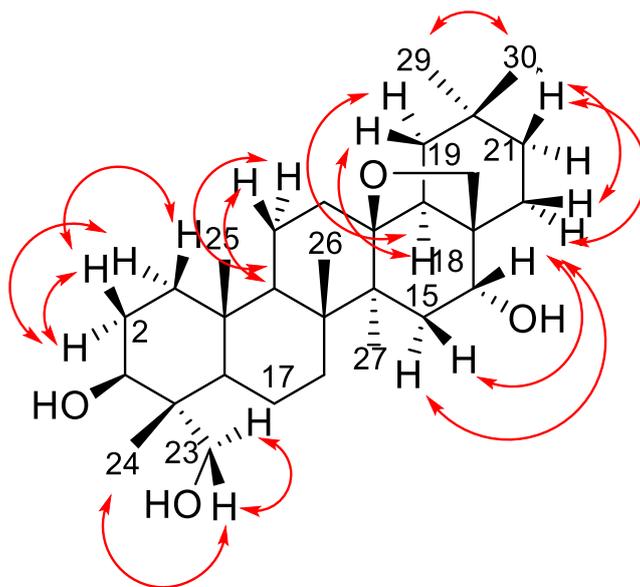


Figure 90 : Corrélations COSY de la génine du composé **Am 3**

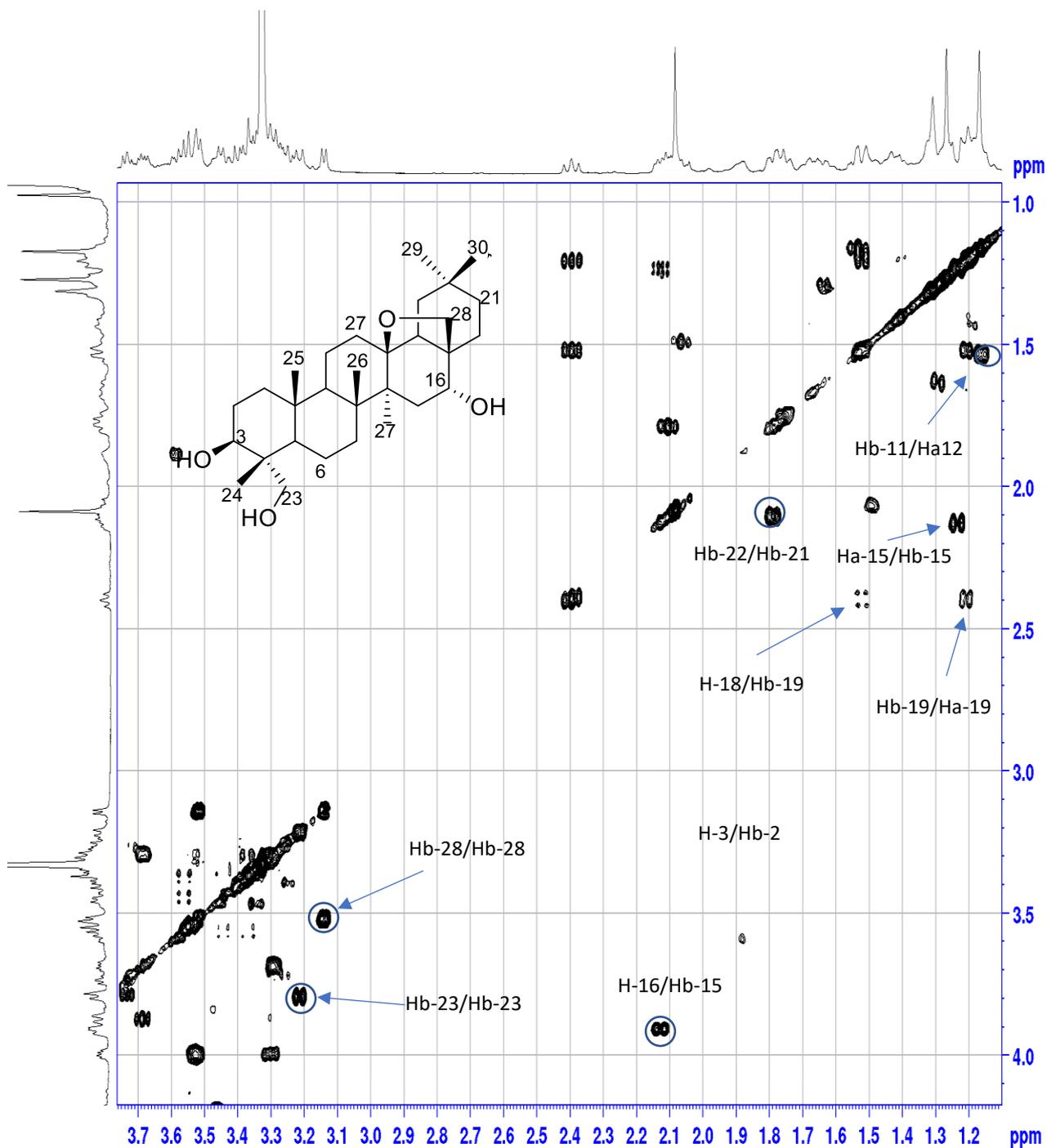


Figure 91 : Spectre COSY de la partie génine du composé **Am 3**

- Analyse du spectre HSQC du composé **Am 3**

Le spectre HSQC (Figures 92-93) montre des corrélations de six signaux de méthyles tertiaires résonant à δ_H 0.68, 0.93, 0.93, 0.97, 1.17 and 1.27 ppm avec six signaux de carbones respectivement à δ_C 11.9 (C-24), 15.8 (C-25), 23.5 (C-30), 32.5 (C-29), 17.4 (C-26) et 18.5 (C-27) ppm.

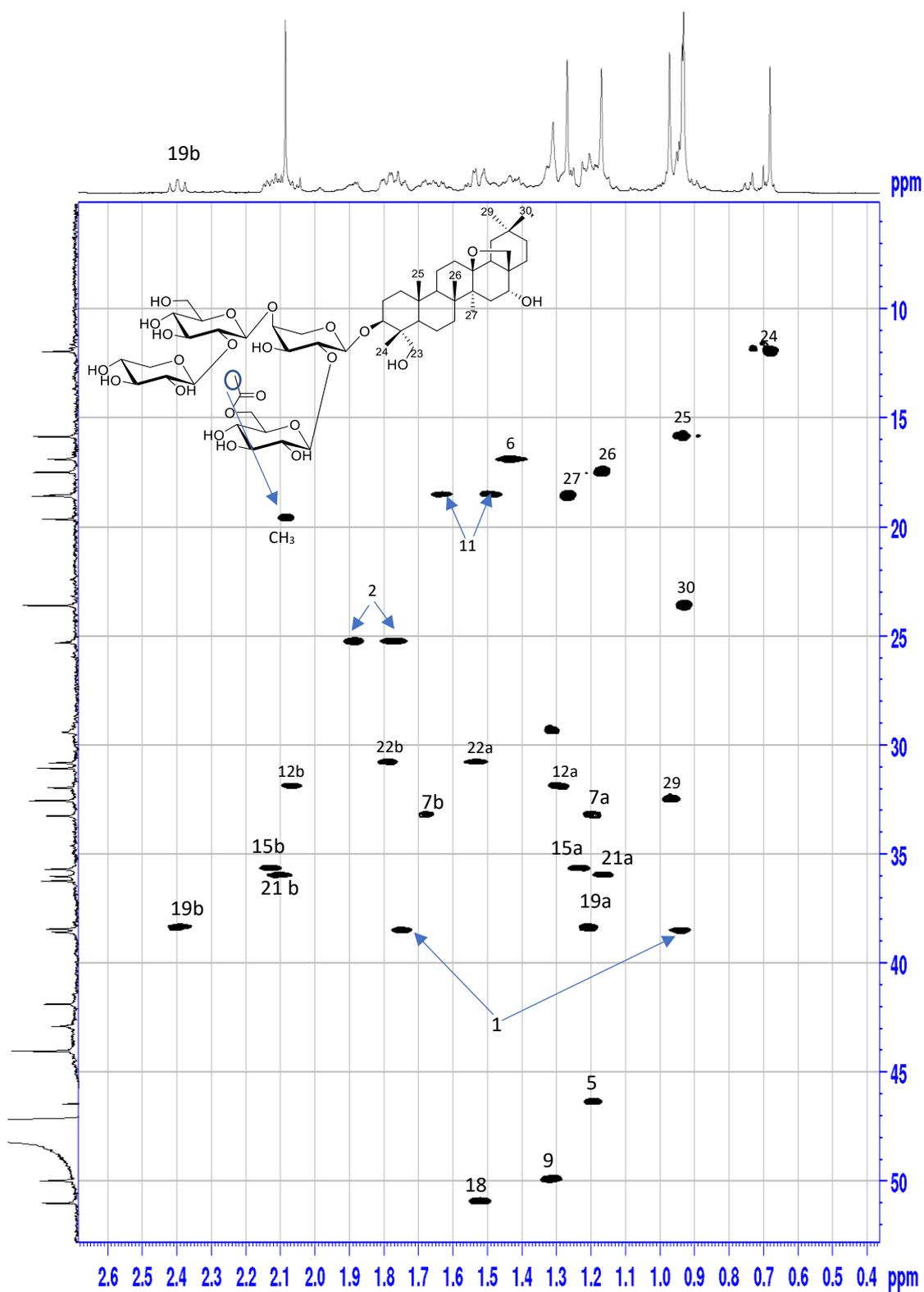


Figure 92 : Spectre HSQC de la partie génine du composé *Am 3*

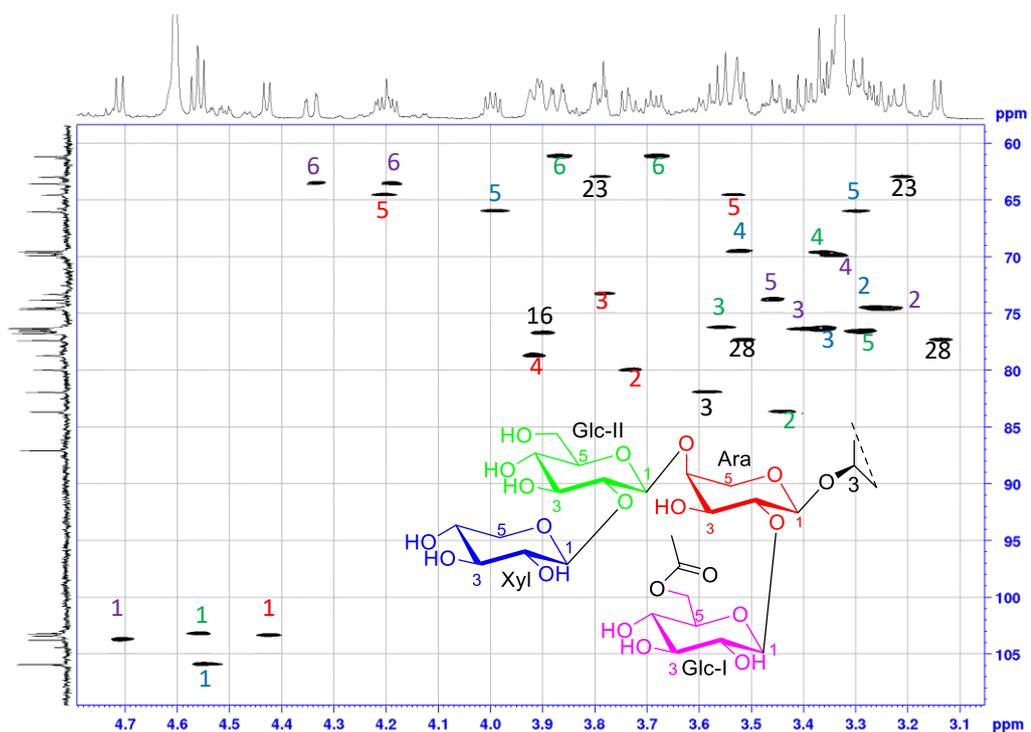


Figure 93 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 3.

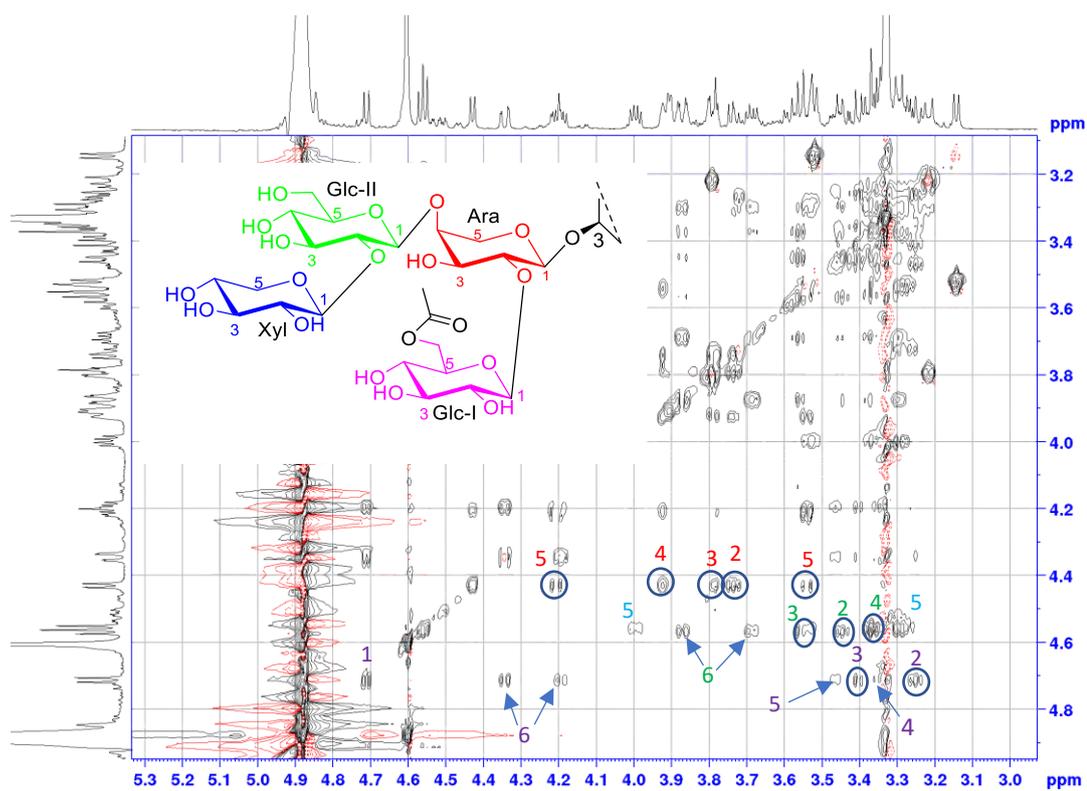


Figure 94 : Spectre TOCSY de la partie osidique du composé Am 3.

- Analyse de spectres HMBC du composé Am 3

Le spectre HMBC (Figure 95) montre les corrélations principales du composé **Am 3**

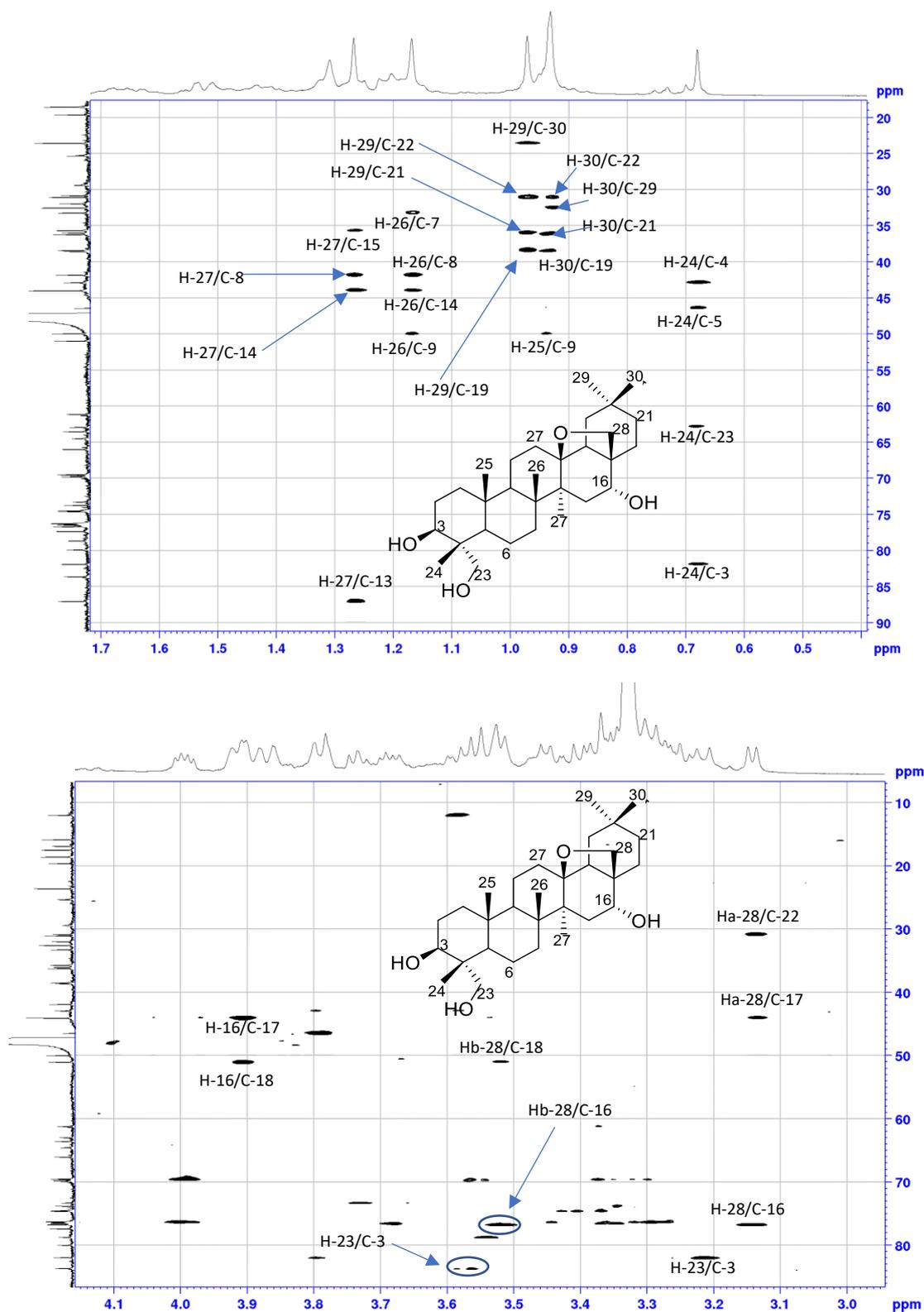


Figure 95 : Spectre HMBC de la partie aglycone du composé **Am 3**

Le spectre HMBC (Figure 96) de la partie osidique du composé **Am 3** montre :

- Une corrélation entre le proton anomérique H-1' (δ_H 4.43) de l'arabinose (Ara) et le carbone en position 3 (δ_C 81.9) de la génine.
- Une corrélation entre le proton anomérique H-1'' (δ_H 4.71) du glucose (Glc-I) et le carbone en position 2' (δ_C 79.9) de l'arabinose.
- Une corrélation entre le proton anomérique H-1''' (δ_H 4.56) du glucose (Glc-II) et le carbone en position 4' (δ_C 78.7) de l'arabinose.
- Une corrélation entre le proton anomérique H-1'''' (δ_H 4.55) du xylose (Xyl) et le carbone en position 2''' (δ_C 83.6) du glucose (Glc-II).
- Une corrélation observée sur le spectre HMBC entre le proton Ha-6 à δ_H 4.20 ppm avec un carbonyle à δ_C 171.5 ppm. Ce dernier présente une corrélation avec le signal singulet d'un méthyle à δ_H 2.08 ppm. Ces données nous permettent de situer un groupement acétyle (OAc) sur la position 6'' du glucose (Glc-I).

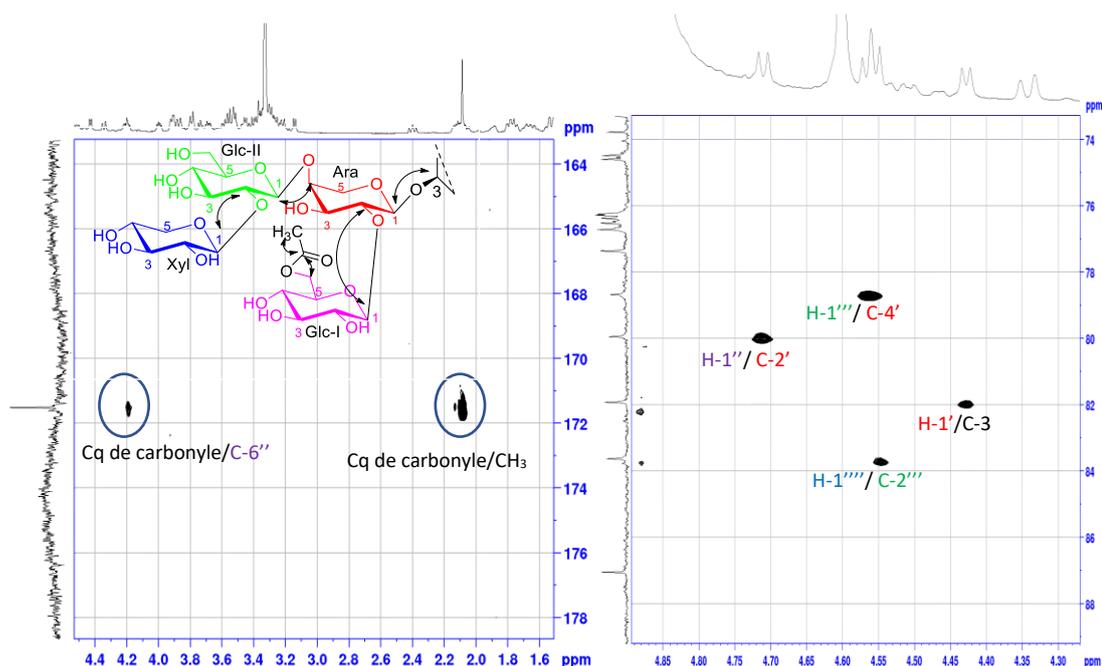


Figure 96 : Spectre HMBC de la partie osidique du composé **Am 3**.

L'ensemble des données spectroscopiques nous ont conduit à proposer pour ce composé la structure suivante : 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[6-acétyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3 β ,16 α ,22 α -triol, nommé **Monelloside C**.

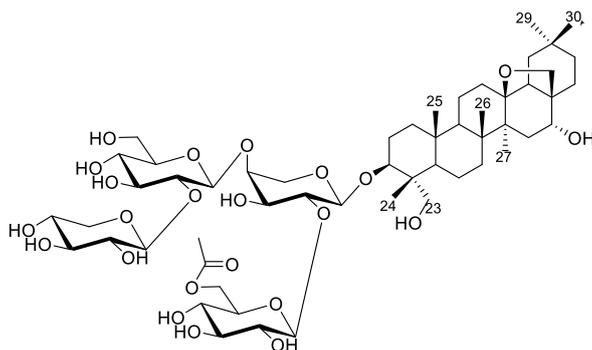


Tableau 25: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 3** dans CD_3OD

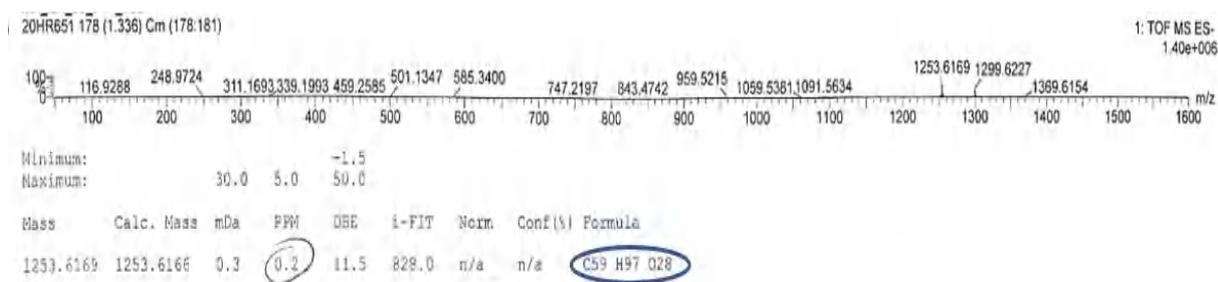
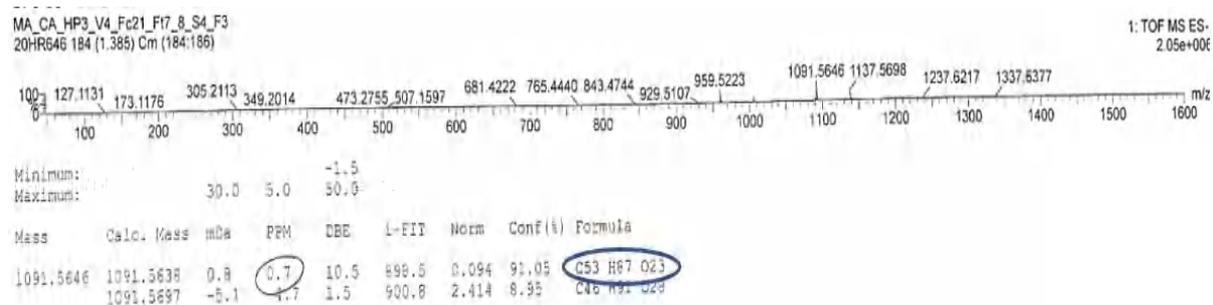
Position	3		Position	3	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	0.95 m	Ara		
		1.75 m	1'	103.7	4.43 d (6.8)
2	25.3	1.77 t (12.5) 1.88 m	2'	79.9	3.73 dd (8.2, 6.8)
3	81.9	3.58 dd (11.9, 4.7)	3'	73.3	3.79 d (9.0)
4	42.9	–	4'	78.7	3.92 m
5	46.4	1.19 m	5'	64.5	3.53 d (12.5) 4.19 dd (11.9, 5.4)
6	16.8	1.41 m 1.45 m	Glc I		
			1''	103.4	4.71 d (7.6)
7	33.2	1.19 m 1.67 td (13.2, 3.8)	2''	74.6	3.25 t (7.6)
			3''	76.4	3.41 t (9.0)
8	41.8	–	4''	69.8	3.35 t (9.5)
9	49.9	1.32 m	5''	73.8	3.46 m
10	36.2	–	6''	63.5	4.20 dd (11.5, 2.5) 4.34 dd (11.5, 1.98)
11	18.5	1.49 m 1.64 m	Glc II		
12	31.9	1.29 m 2.07 m	1'''	103.2	4.56 d (7.2)
13	87.0	–	2'''	83.6	3.44 dd (9.0, 7.2)
14	44.0	–	3'''	76.2	3.56 t (9.0)
15	35.6	1.23 d (15.7) 2.13 m	4'''	69.6	3.37 t (9.0)
			5'''	76.5	3.28 m
16	76.7	3.90 d (4.7)	6'''	61.1	3.68 dd (12.2, 5.4) 3.87 d (12.2, 2.2)
17	43.9	–	Glc III		
18	51.0	1.52 dd (14.0, 4.7)	1''''		
19	38.4	2.40 dd (14.0, 12.2) 1.21 d (12.6)	2''''		
20	31.0	–	3''''		

Tableau 25 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 3** dans CD_3OD

21	36.0	1.15 m 2.10 m	4'''' 5''''		
22	30.8	1.52 td (13.2, 4.4) 1.79 d (13.2)	6''''		
23	62.9	3.21 d (11.2) 3.79 d (11.2)	Xyl		
24	11.9	0.68 s	1''''''	105.9	4.55 d (6.8)
25	15.8	0.93 s	2''''''	74.5	3.27 dd (9.0, 6.8)
26	17.4	1.17 s	3''''''	76.3	3.36 t (9.0)
27	18.5	1.27 s	4''''''	69.5	3.52 m
28	77,3	3.14 d (7.6) 3.52 d (7.6)	5''''''	66.0	3.30 m 3.99 dd (11.5, 5.4)
29	32.5	0.97 s	OAc	171.5	-
30	23.5	0.93 s	CH_3	19.6	2.08 S

III.1.2.4. Elucidation structurale des composés Am 4 et Am 5

Les spectres de masse haute résolution des composés **Am 4** et **Am 5** ont été obtenus en HR-ESI-MS en mode négatif (Figures 97-98) et montrent un pic pseudomoléculaire à m/z 1253.6169 $[\text{M-H}]^-$ (calc, 1253.6166) correspondant à la formule brute $\text{C}_{59}\text{H}_{97}\text{O}_{28}$ et à m/z 1091.5646 $[\text{M-H}]^-$ (calc, 1091.5638) correspondant à la formule brute $\text{C}_{53}\text{H}_{87}\text{O}_{23}$, respectivement.

**Figure 97 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 4****Figure 98 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 5**

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C des composés Am 4 et Am 5

L'analyse des spectres de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 4** et **Am 5** (Figure 99), nous suggère la présence d'un squelette triterpénique (Anagalligénine B) (Machocho et al., 2003) avec la même génine que **Am 3** et les mêmes unités osidiques que celles de **Am 2** et **Am 1**, respectivement. Excepté, la présence d'un singulet d'intégration 1H à δ_{H} 4.19 ppm correspondant à H-28 et un singulet d'intégration 3H à δ_{H} 3.33 ppm dû au groupement méthoxy en position 28 dans la partie génine de **Am 4** et **Am 5**.

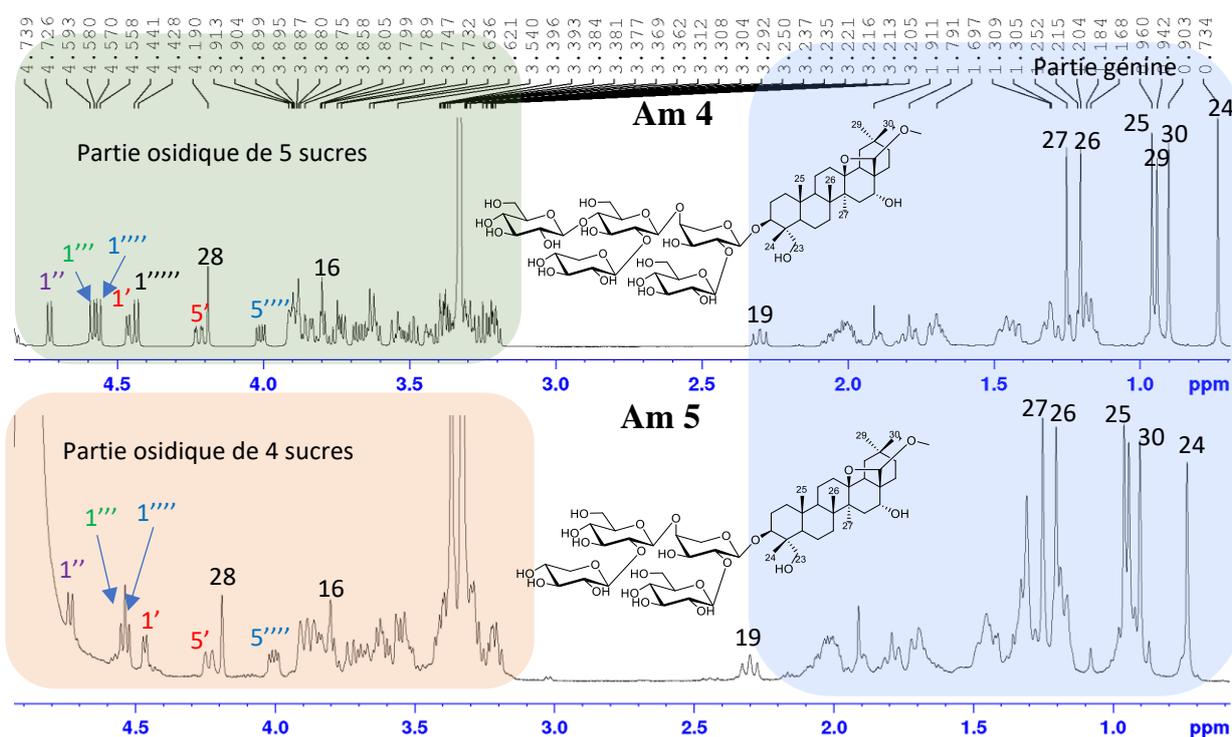


Figure 99 : Spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés **Am 4** et **Am 5**

Les spectres de RMN ^{13}C (Figures 100-102) de **Am 4** et **Am 5** sont identiques au niveau de la partie génine et présentent des carbones similaires avec des déplacements chimiques proches à ceux de la partie génine de **Am 3**.

- Dans la partie génine :

Les spectres de RMN ^{13}C de **Am 4** et **Am 5** indiquent la présence du groupement méthoxy (RO-CH_3) à δ_{C} 53.9 ppm en position 28 sur le squelette triterpénique (Figures 100-101).

- Dans la partie osidique :

-le composé **Am 4** exhibe les mêmes signaux que ceux des unités osidiques de **Am 2**.

-le composé **Am 5** exhibe les mêmes signaux que ceux des unités osidiques de **Am 1**.

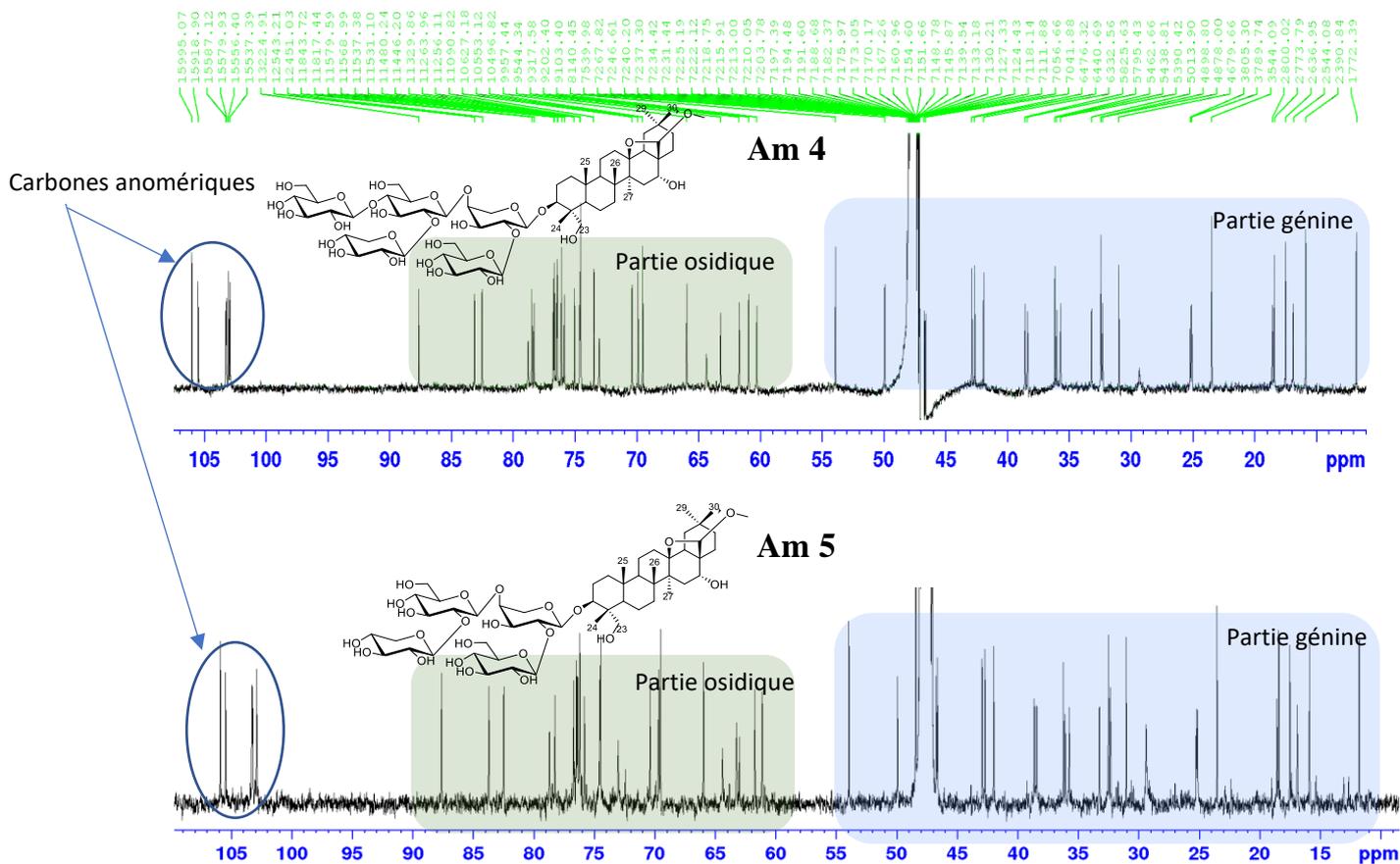


Figure 100 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés avec les différents étalements Am 4 et Am 5.

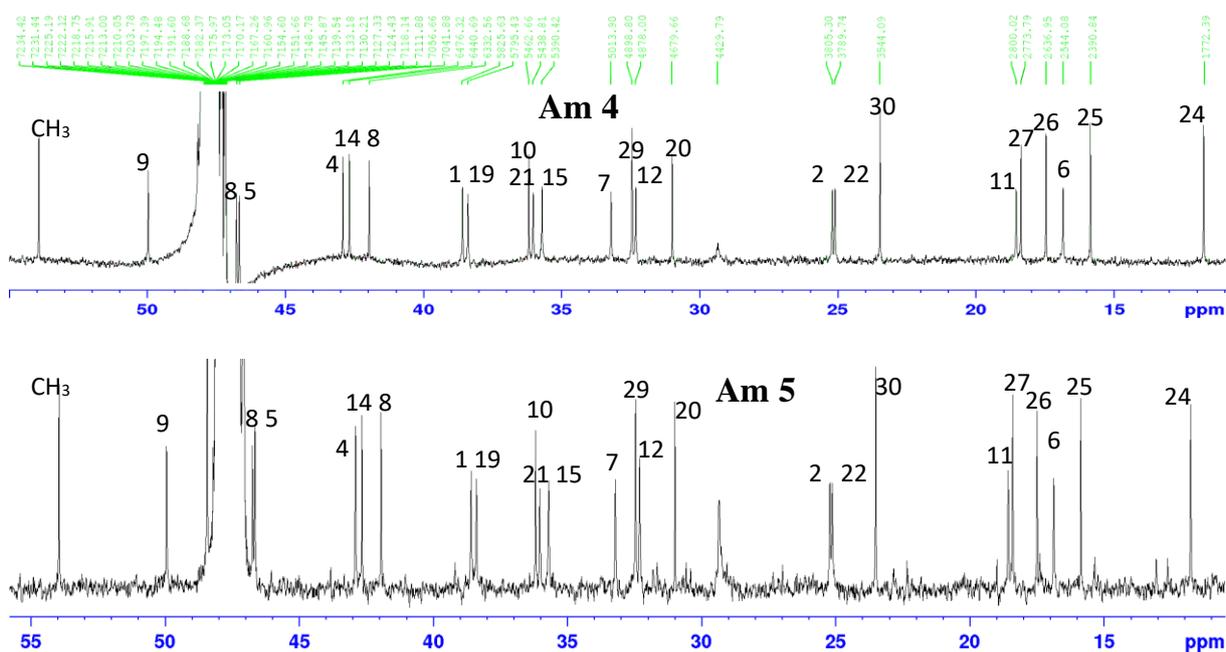


Figure 101 : Spectres RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés avec les différents étalements Am 4 et Am 5.

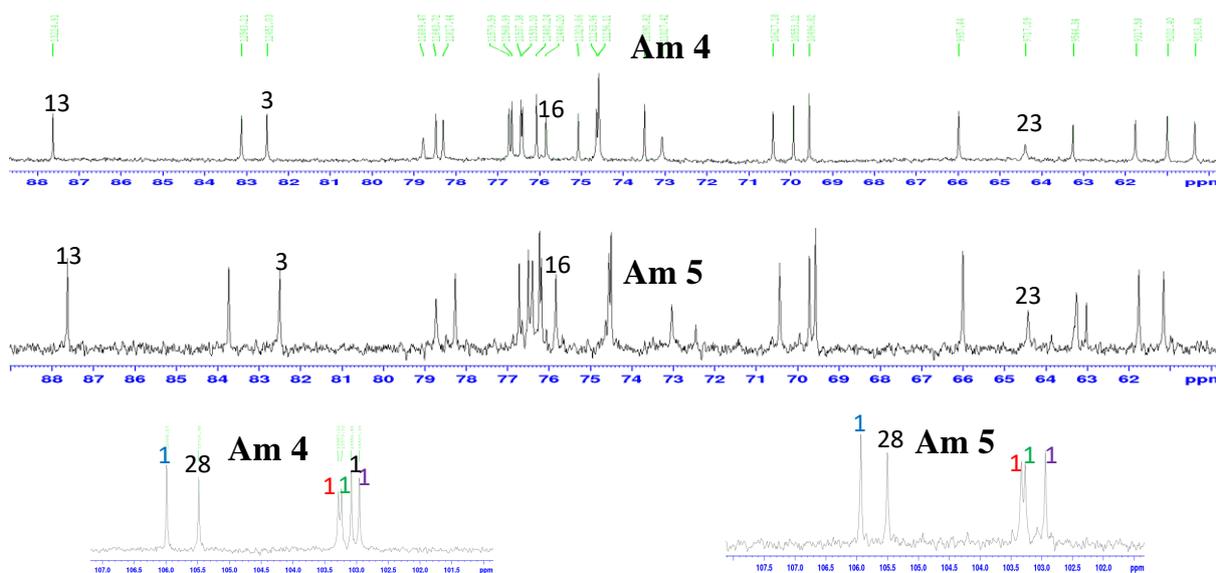


Figure 102 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés avec les différents étalements **Am 4** et **Am 5**.

- Analyse des spectres en 2D des composés **Am 4** et **Am 5**

Les expériences RMN-HSQC et HMBC (Figures 103-104) permettent d'attribuer les corrélations hétéronucléaires $J_{\text{H-H}}$, $J_{\text{H-C}}$ et ${}^nJ_{\text{H-C}}$, observées sur les spectres d'après les déplacements chimiques des carbones, portant les protons ou groupements correspondant.

- Analyse de spectres HSQC des composés **Am 4** et **Am 5**

Un signal intégrant pour 3 protons à δ_{H} 3.33 ppm est corrélé à un signal qui apparaît à 53.9 ppm sur les spectres HSQC des composés **Am 4** et **Am 5** indiquant la présence d'un méthoxy sur les deux composés (Figure 103).

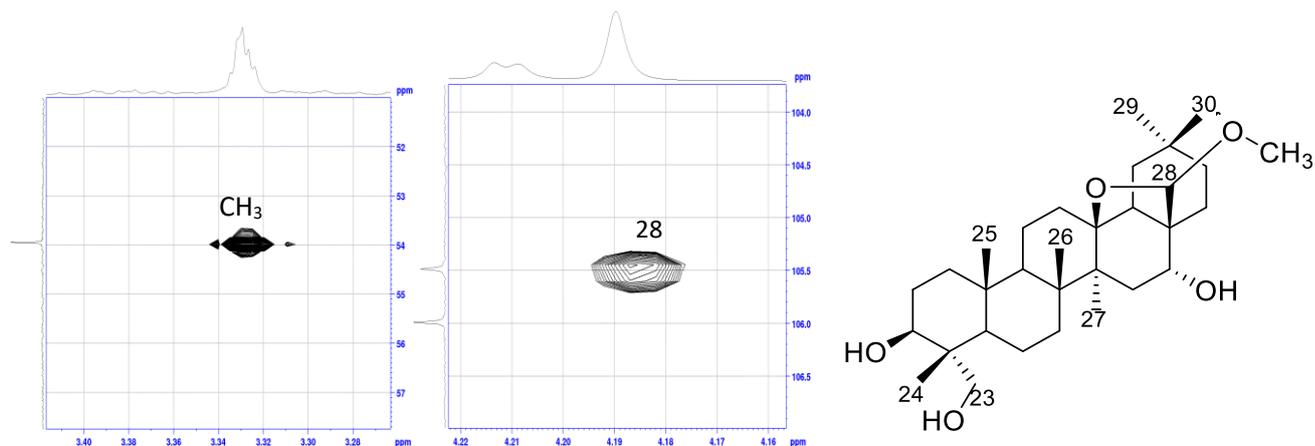


Figure 103 : Spectre HSQC de la partie génine (position 28) du composé **Am 4**

- Analyse de spectres HMBC des composés Am 4 et Am 5

Le proton H-28 à δ_H 4.19 ppm sous forme singulet, présente une corrélation avec le carbone de méthyle situé à δ_C 53.9 ppm sur les spectres HMBC des composés **Am 4** et **Am 5**, et permet de positionner le groupement méthoxy sur le carbone C-28 pour les deux composés (Figure 105).

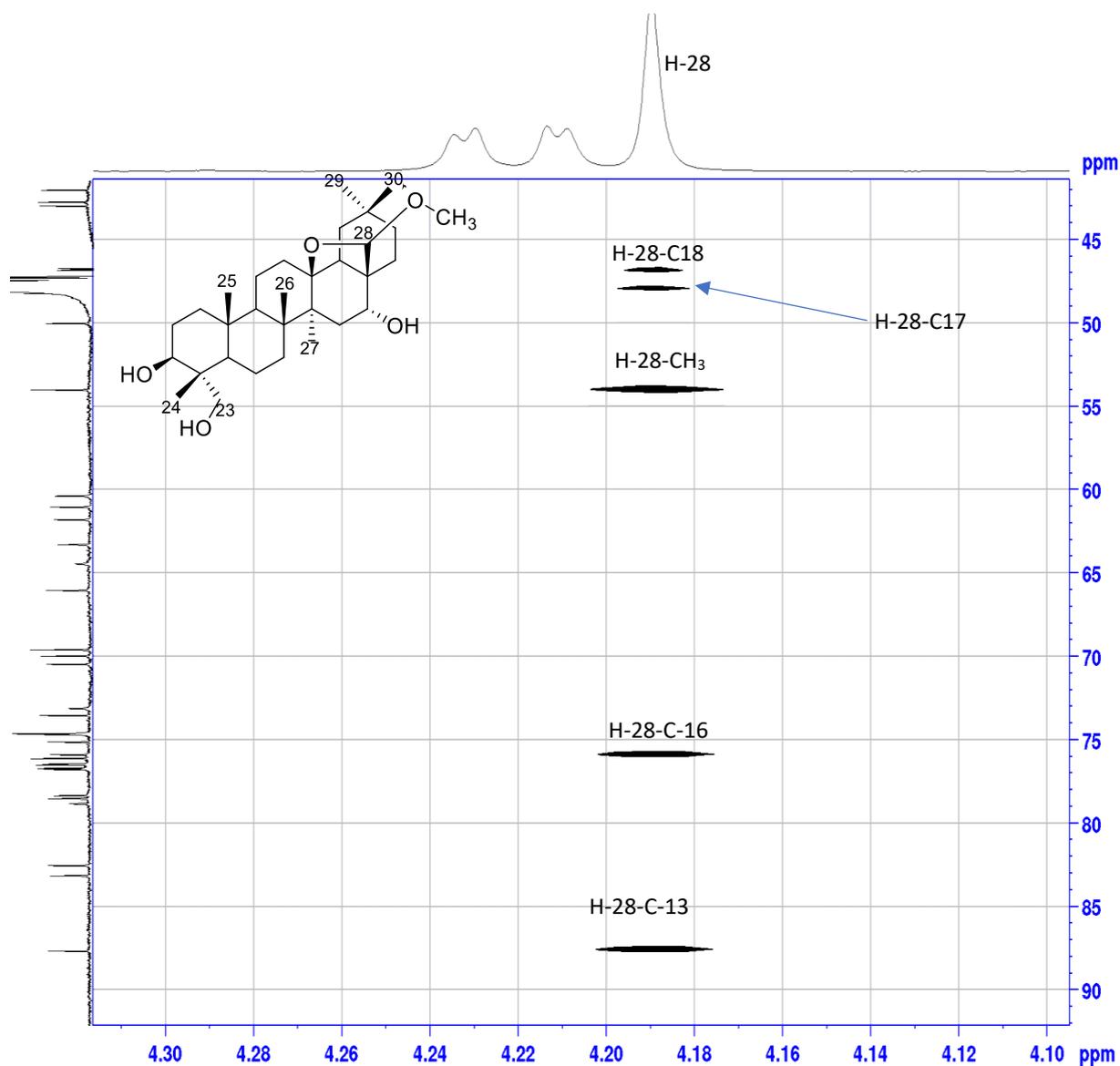


Figure 104 : Spectre HMBC de la partie génine des composés **Am 4** et **5**

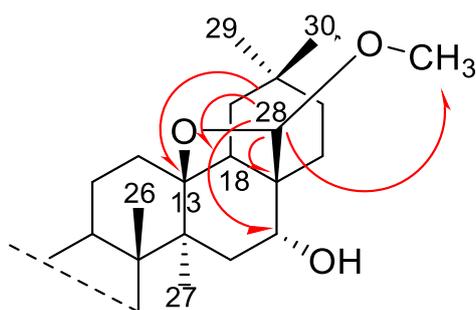


Figure 105 : Corrélations HMBC de la partie génine (noyaux D et E) du composé **Am 4**.

- Analyse des spectres HMBC de la partie osidique du composés **Am 4** et **Am 5**

Les corrélations observées sur les spectres HMBC (Figures 106-107) de **Am 4** et **Am 5** à partir de chaque proton anomérique permettent d'identifier les mêmes enchaînements des unités osidiques des composés **Am 2** et **Am 1**, respectivement.

Le composé **Am 4**

- La corrélation entre le proton H-1' (δ_H 4.46 ppm) de l'arabinose (**Ara**) et le carbone C-3 (δ_C 82.5 ppm) de l'Anagalligénine B montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.
- Le proton H-1'' (δ_H 4.73 ppm) du glucose (**Glc-I**) corrèle avec le carbone C-2' (δ_C 78.3 ppm) de l'arabinose (**Ara**) lié à la génine.
- Le proton H-1''' (δ_H 4.58 ppm) du glucose (**Glc-II**) corrèle avec le carbone C-4' (δ_C 78.8 ppm) de l'arabinose (**Ara**) lié à la génine.
- Le proton H-1'''' (δ_H 4.56 ppm) du xylose (**Xyl**) corrèle avec le carbone C-2''' (δ_C 83.1 ppm) du glucose (**Glc-II**) lié à l'arabinose en position C-4'.
- Le proton H-1''''' (δ_H 4.43 ppm) du glucose (**Glc-III**) corrèle avec le carbone C-4'' (δ_C 78.5 ppm) du glucose (**Glc-II**) lié à l'arabinose en position C-4'.

Le composé **Am 5**

- Le proton H-1'' du glucose (**Glc-I**) corrèle avec le carbone C-2' de l'arabinose (**Ara**) lié à la génine en position 3.
- Le proton H-1''' du glucose (**Glc-II**) corrèle avec le carbone C-4' de l'arabinose (**Ara**) lié à la génine en position 3.
- Le proton H-1'''' du Xylose (**Xyl**) corrèle avec le carbone C-2''' du glucose (**Glc-II**) lié à l'arabinose en position C-4'.

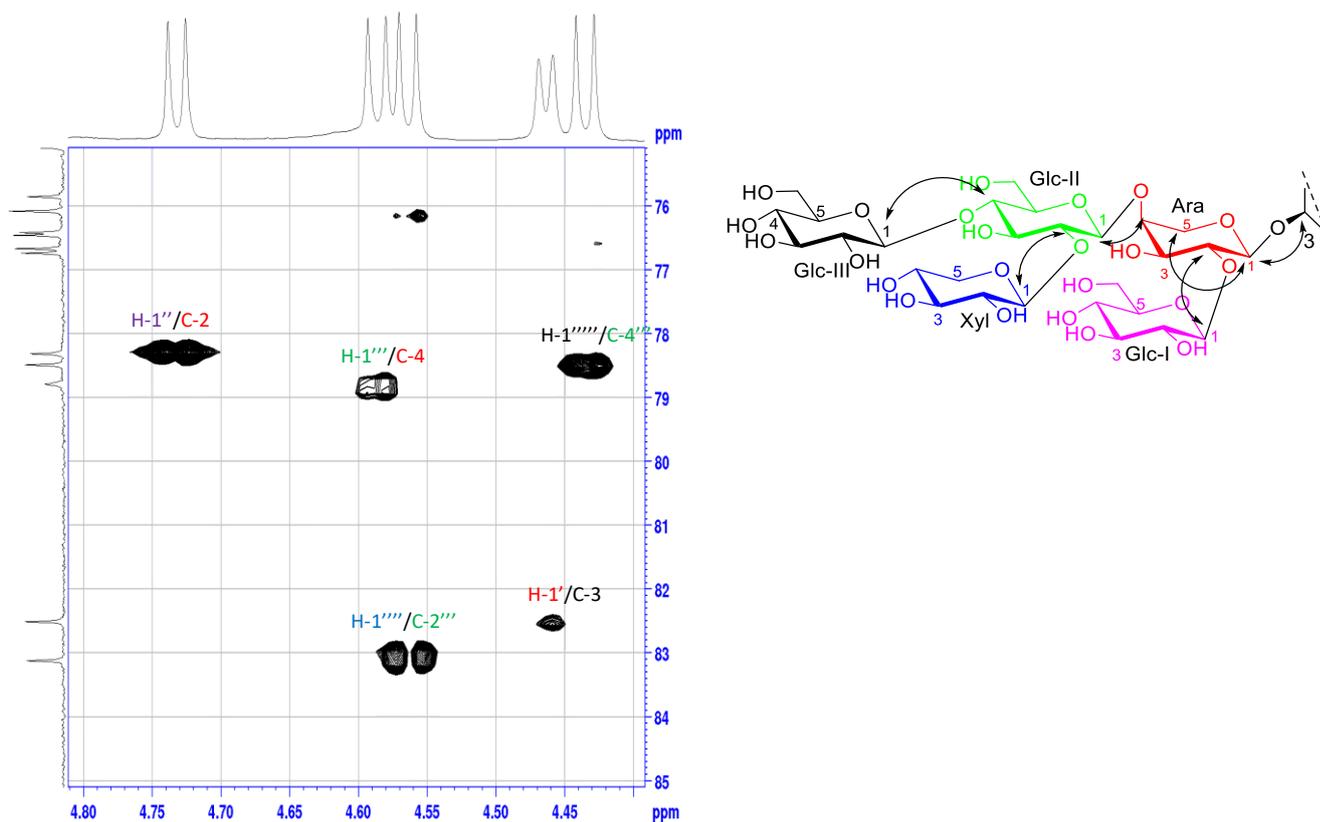


Figure 106 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé **Am 4**

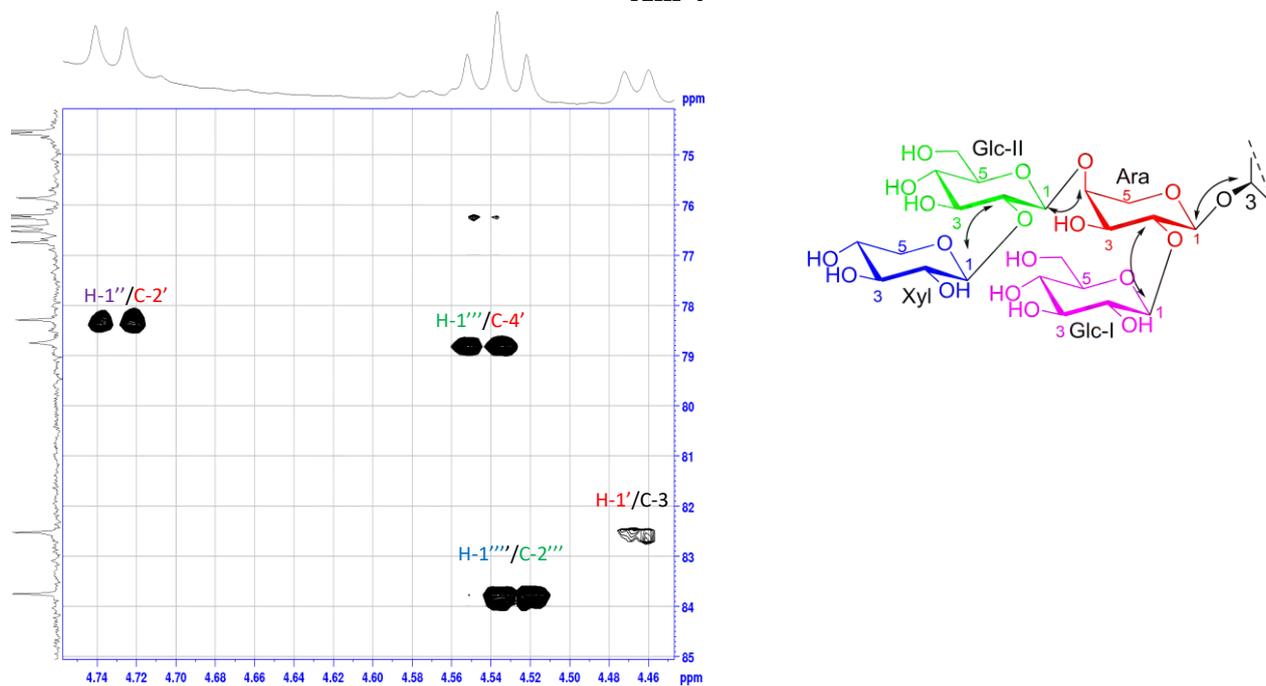
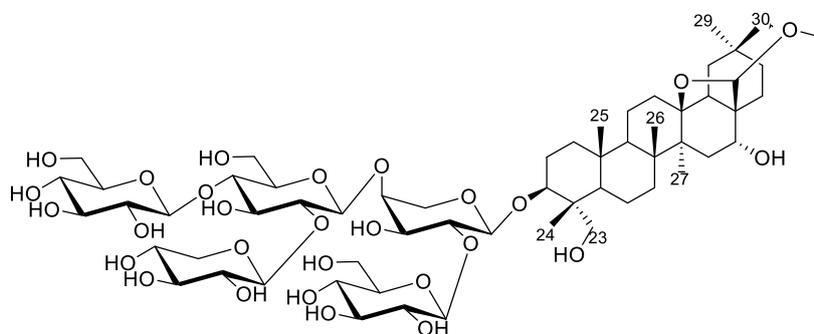


Figure 107 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé **Am 5**.

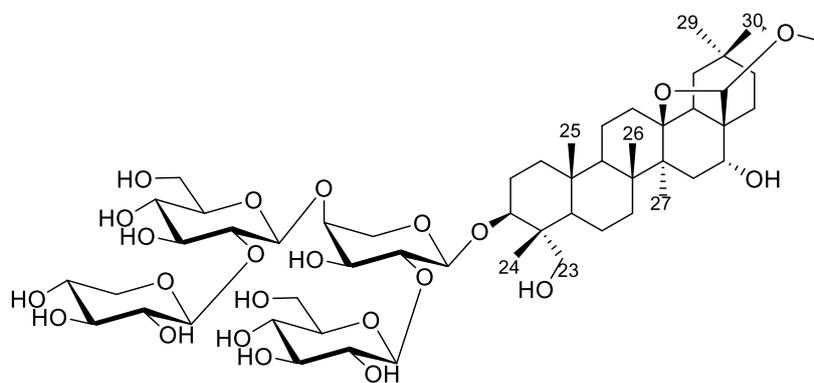
L'ensemble des données spectroscopiques nous ont conduit à proposer pour ces composés les structures suivantes (Tableau 26-27) :

Am 4 : 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)[β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-méthoxyoléan-3β,16α,23α-triol, nommé **Monelloside D**.

Am5 : 3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-méthoxyoléan-3β,16α,23α-triol, nommé **Monelloside E**.



Am 4



Am 5

Tableau 26: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 4** dans CD₃OD.

Position	4		Position	4	
	δ _C	δ _H		δ _C	δ _H
1	38.6	0.96 m	Ara		
		1.77 m	1'	103.3	4.46 d (6.3)
2	25.2	1.80 m	2'	78.3	3.79 m
		1.89 m			
3	82.5	3.62 m	3'	73.1	3.80 m
4	42.9	–	4'	78.8	3.91 m
5	46.8	1.17 dd (9.9, 2.7)	5'	64.4	3.55 dm (12.6) 4.22 dd (12.6, 2.9)
6	16.9	1.42 m 1.46 m	Glc I		
			1''	102.9	4.73 d (7.7)
7	33.2	1.19 m 1.69 m	2''	74.6	3.24 t (9.4, 7.7)
			3''	76.4	3.39 t (9.2)
8	41.9	–	4''	70.4	3.20 t (9.3)
9	50.0	1.29 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.2	–	6''	61.7	3.62 dd (12.1, 6.7) 3.87 dd (12.1, 2.1)
11	18.6	1.47 m 1.69 m	Glc II		
			1'''	103.2	4.58 d (7.8)
13	87.6	–	2'''	83.1	3.48 dd (9.0, 7.8)
14	42.7	–	3'''	74.6	3.75 t (9.1)
15	35.7	1.22 d (15.2) 2.01 m	4'''	78.5	3.63 t (9.2)
			5'''	75.1	3.44 dt (9.6, 3.6)
16	75.8	3.83 d (5.2)	6'''	60.3	3.88 m 3.88 m
17	47.9	–	Glc III		
18	46.7	1.71 m	1''''	103.1	4.43 d (7.9)
19	38.4	1.17 m	2''''	73.5	3.23 dd (9.0, 7.9)
		2.30 dd (14.5, 12.0)			
20	31.0	–	3''''	76.4	3.37 t (9.0)
21	36.0	1.15 m 2.06 t (13.3)	4''''	69.9	3.32 m
			5''''	76.7	3.35 m
22	25.1	1.98 m	6''''	61.0	3.68 dd (11.7, 5.2) 3.89 dd (11.7, 1.9)
		1.42 dm (12.4)			
23	63.2	3.30 d (11.5)	Xyl		
		3.73 d (11.5)			
24	11.7	0.73 s	1'''''	106.	4.56 d (7.5)
25	15.8	0.96 s	2'''''	74.6	3.26 dd (8.2, 7.5)
26	17.5	1.20 s	3'''''	76.1	3.37 m
27	18.4	1.25 s	4'''''	69.6	3.52 m

Tableau 26 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 4** dans CD_3OD

28	105.5	4.19 s	5''''	66.0	3.32 m 4.00 dd (11.4, 5.2)
29	32.5	0.94 s			
30	23.5	0.90 s			
OAc	171.5	-			
CH3	53.9	3.33 s			

Tableau 27: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 5** dans CD_3OD

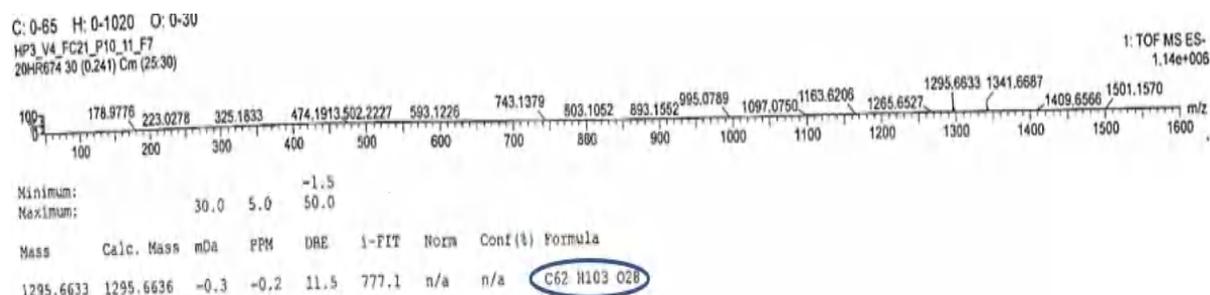
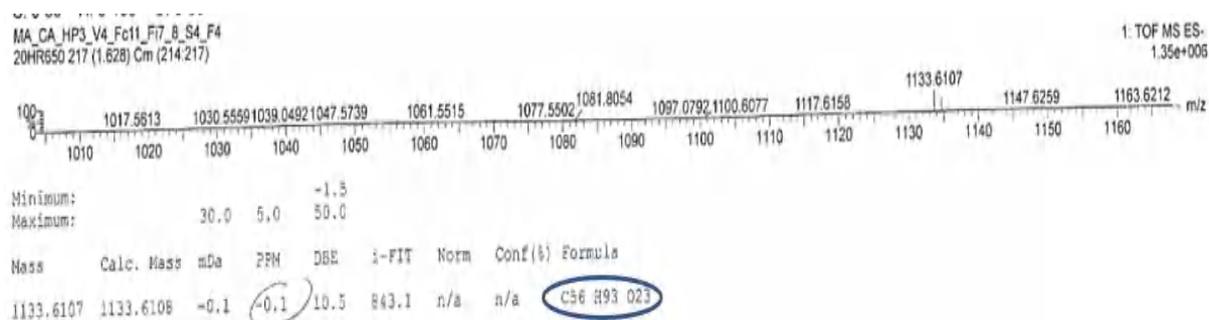
Position	5		Position	5	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.6	0.96 m	Ara		
		1.77 m	1'	103.3	4.46 d (5.8)
2	25.2	1.80 m	2'	78.3	3.79 dd (8.7, 5.8)
		1.89 m			
3	82.5	3.62 m	3'	73.0	3.80 dd (5.8, 3.3)
4	42.9	-	4'	78.7	3.91 m
5	46.8	1.17 dd (9.9, 2.7)	5'	64.4	3.55 dd (12.7, 1.2) 4.24 dd (12.7, 2.5)
6	16.9	1.42 m	Glc I		
		1.46 m	1''	102.9	4.73 d (7.8)
7	33.2	1.19 m	2''	74.6	3.22 t (9.1, 7.8)
		1.69 m	3''	76.4	3.40 t (9.1)
8	41.9	-	4''	70.4	3.21 t (9.1)
9	50.0	1.29 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.2	-	6''	61.7	3.62 dd (11.9, 6.6) 3.86 dd (11.9, 4.3)
11	18.6	1.47 m 1.69 m	Glc II		
12	32.3	1.32 m 2.01 m	1'''	103.3	4.54 d (7.8)
13	87.6	-	2'''	83.7	3.40 t (8.5)
14	42.7	-	3'''	76.2	3.55 t (9.3)
15	35.7	1.22 d (15.2)	4'''	69.7	3.35 t (9.4)
		2.01 m	5'''	76.5	3.30 m
16	75.8	3.83 d (5.2)	6'''	61.1	3.68 dd (11.9, 5.6) 3.87 dd (11.9, 4.1)
17	47.9	-	Glc III		
18	46.7	1.71 m	1''''		
19	38.4	1.17 m	2''''		
		2.30 dd (14.5, 12.0)			
20	31.0	-	3''''		
21	36.0	1.15 m	4''''		
		2.06 t (13.3)	5''''		

Tableau 27 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 5** dans CD_3OD

22	25.1	1.98 m 1.42 dm (12.4)	6''''		
23	63.2	3.30 d (11.5) 3.73 d (11.5)	Xyl		
24	11.7	0.73 s	1''''	105.9	4.53 d (7.8)
25	15.8	0.96 s	2''''	74.5	3.27 dd (9.2, 7.8)
26	17.5	1.20 s	3''''	76.2	3.37 t (9.2)
27	18.4	1.25 s	4''''	69.6	3.53 m
28	105.5	4.19 s	5''''	66.0	3.31 m 4.00 dd (11.4, 5.4))
29	32.5	0.94 s			
30	23.5	0.90 s			
OAc	171.5	-			
CH3	53.9	3.33 s			

III.1.2.5. Elucidation structurale des composés **Am 6** et **Am 7**

Les spectres de masse haute résolution des composés **Am 6** et **Am 7** (Figures 107-108) ont été obtenus en HR-ESI-MS en mode négatif et donnent un ion pseudomoléculaire à m/z 1295.6633 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calc 1295.6636) correspondant à la formule brute $\text{C}_{62}\text{H}_{103}\text{O}_{28}$ et à m/z 1133.6107 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calc 1133.6108) correspondant à la formule brute $\text{C}_{56}\text{H}_{93}\text{O}_{23}$, respectivement.

**Figure 108 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 6****Figure 109 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 7**

Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C des composés Am 6 et Am 7

L'analyse des spectres de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 6** (Figure 110) et **Am 7** (Figure 111) comparativement à ceux de **Am 4** et **Am 5**, nous montrent la présence d'un squelette triterpénique avec leur enchaînement d'unités osidiques de **Am 4** et **Am 5**, respectivement. Excepté, la présence du groupement butoxy à la place du groupement méthoxy sur la position 28 des composés **Am 6** et **Am 7**.

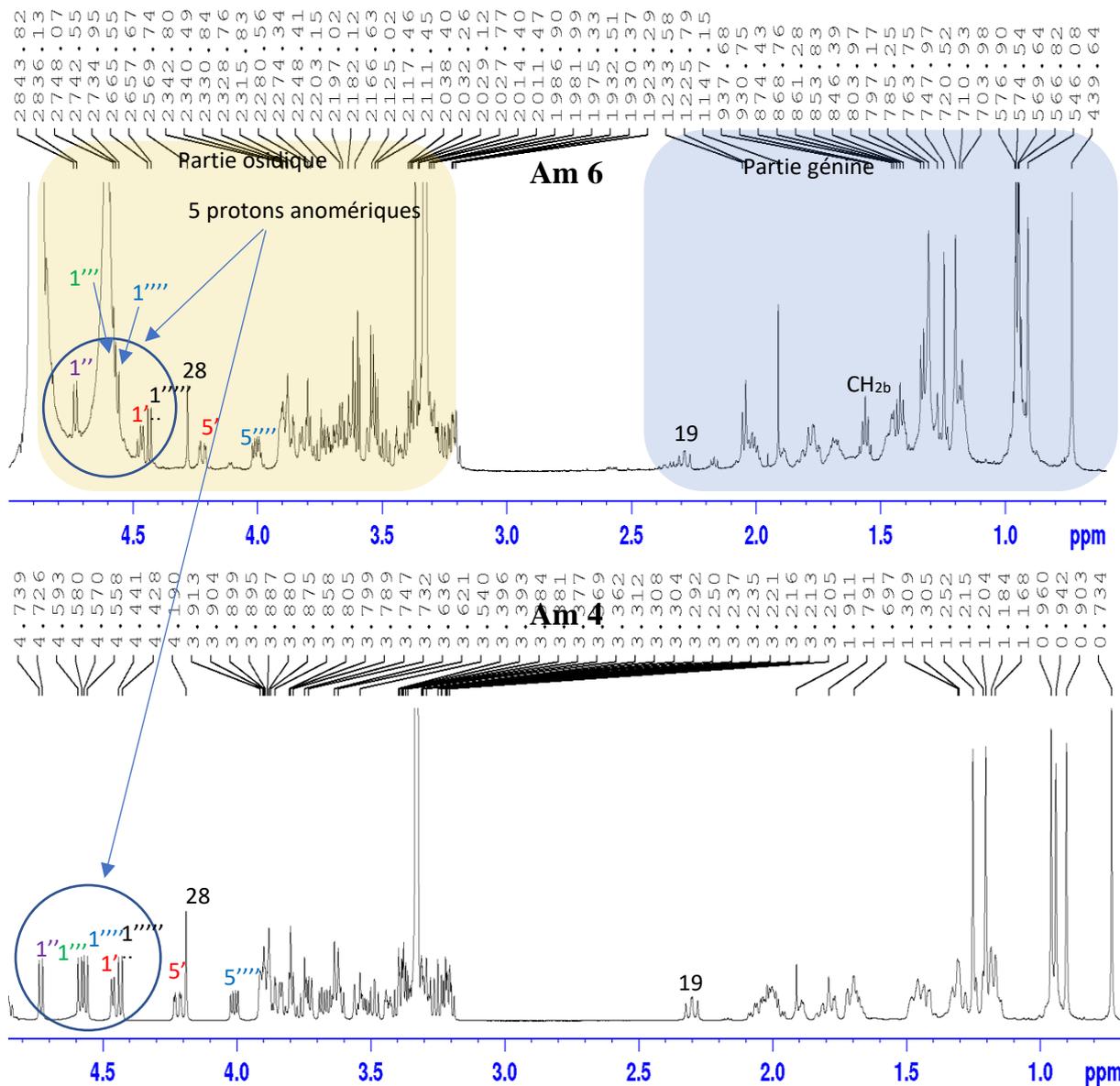


Figure 110 : Spectres de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés **Am 6** et **Am 4**

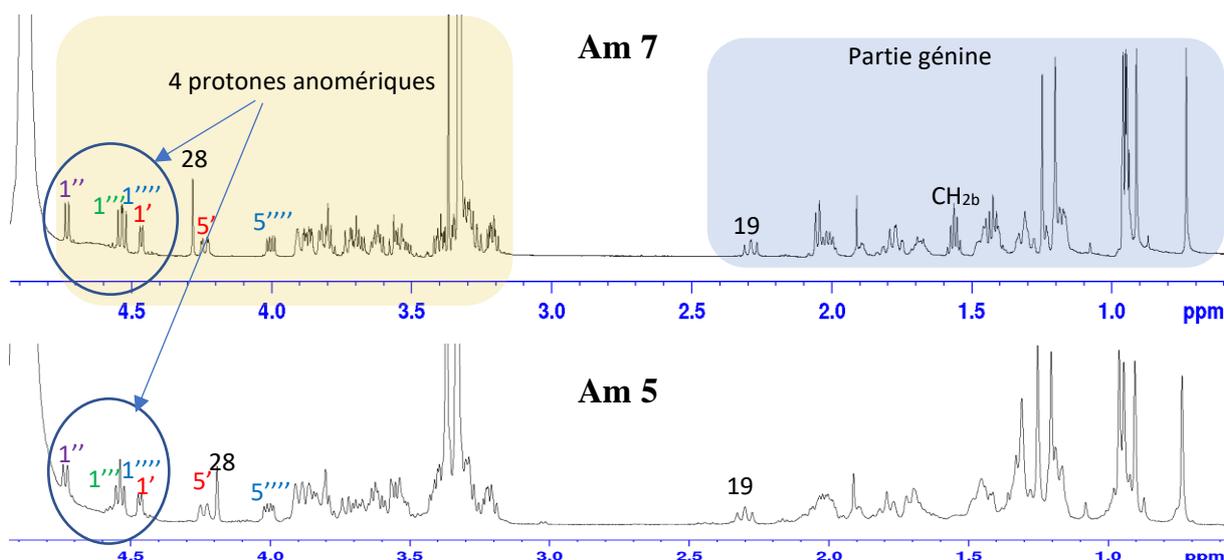


Figure 111 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés **Am 7** et **Am 5**

Les spectres de RMN ^{13}C (Figures 113-114) de **Am 6** et **Am 7** présentent pour la partie osidique des déplacements chimiques des carbones identiques comparativement à ceux de **Am 4** et **Am 5**, respectivement. Cependant, pour les parties aglycones de **Am 6** et **Am 7**. Le déplacement chimique du carbone en C-28 est très déblindé comparativement à celui des composés **Am 4** et **Am 5**. En outre les spectres de RMN ^{13}C de **Am 6** et **Am 7** contiennent chacun 5 pics supplémentaires par rapport à ceux de **Am 4** et **Am 5**.

- *Dans la partie génine :*

La présence de signaux d'un groupement butoxy ($\text{OR}-\text{CH}_{2a}-\text{CH}_{2b}-\text{CH}_{2c}-\text{CH}_3$) en position 28 de **Am 6** et **Am 7** (Figure 112) sont observés sur les spectres RMN ^{13}C à δ_{C} 66.5, 31.7, 19.1 et 12.8 ppm, respectivement (Tableau 28-29).

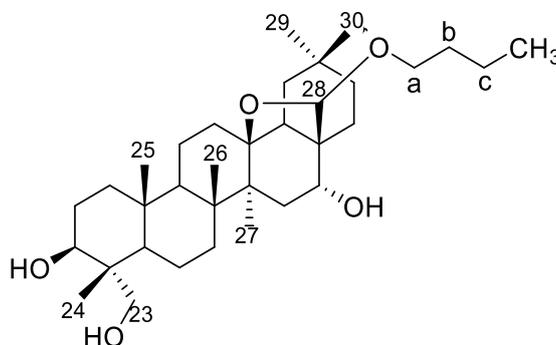


Figure 112 : Structure de la partie génine des composés **Am 6** et **Am 7**

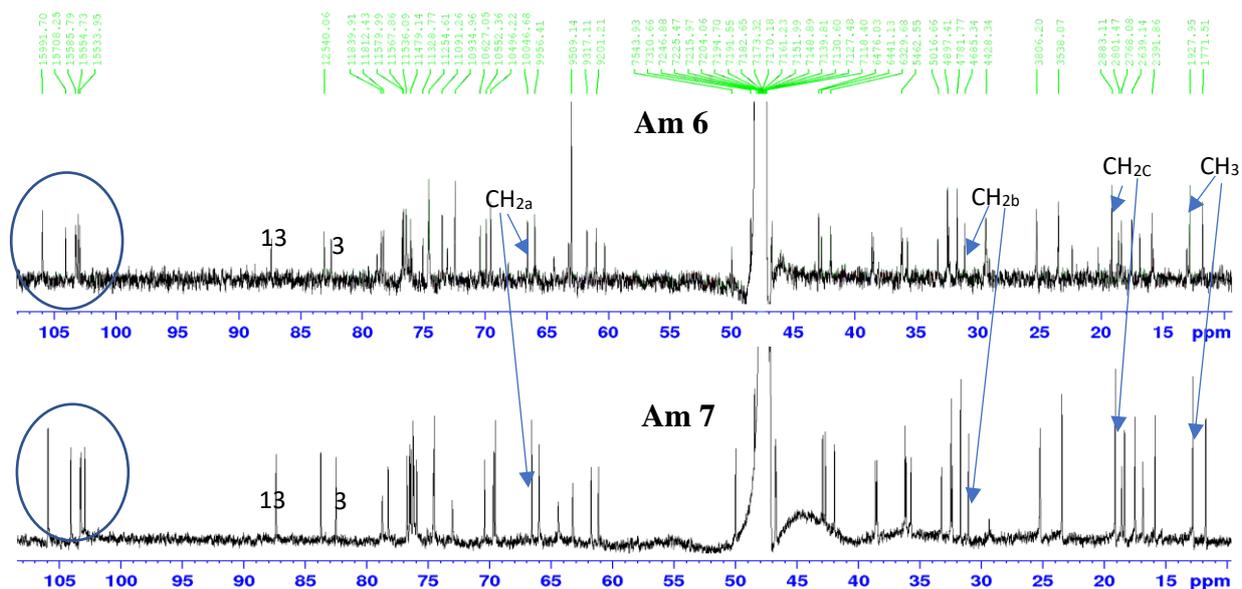
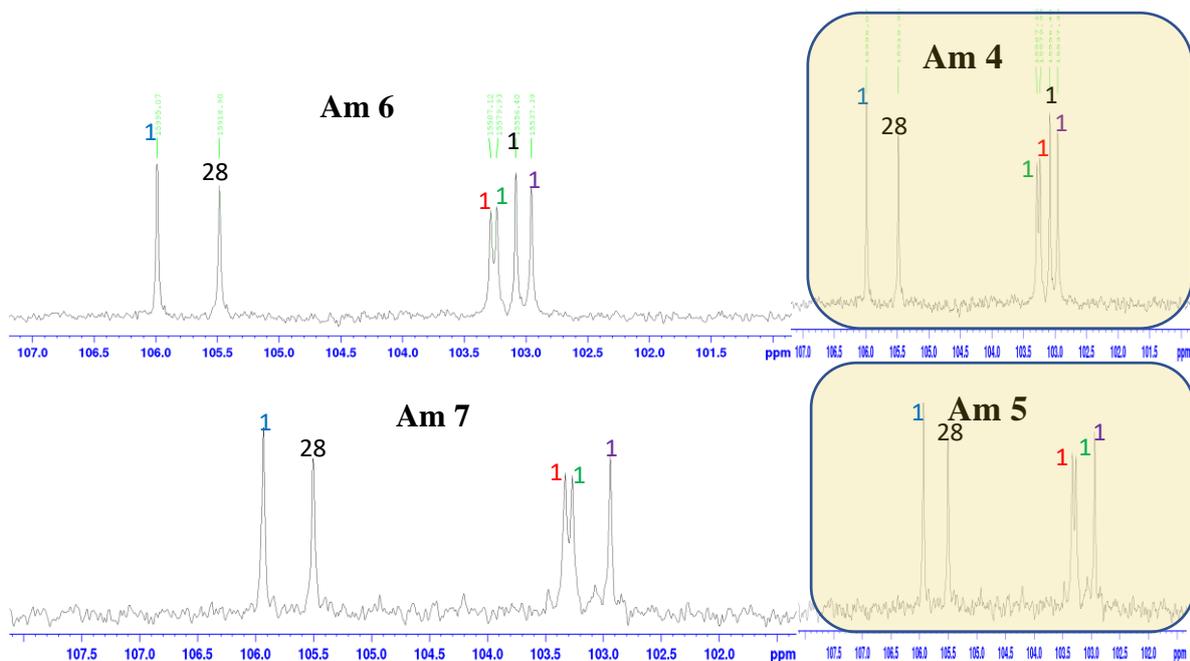
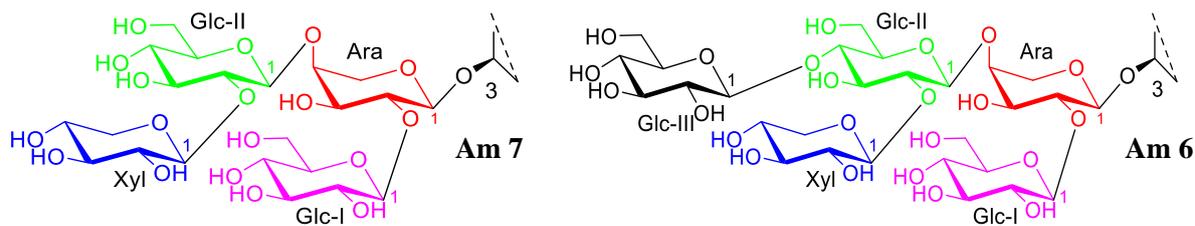
Figure 113 : Spectres de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés Am 6 et Am 7Figures 114 : Spectre de RMN ^{13}C (CD_3OD) des composés Am 6 et Am 7

Figure 115 : Structures de la partie osidique des composés Am 6 et Am 7

- Analyse de spectres COSY des composés Am 6 et Am 7

Les déplacements chimiques des protons de la partie génine sur les spectres COSY (Figure 116) des composés **Am 6** et **Am 7** sont identiques sur lequel on peut observer :

- Deux protons géminés déblindés $H_{a,b}$ - CH_{2a} à δ_H 3.33 et 3.70 ppm indiquant que le méthylène est lié un oxygène, ils présentent une corrélation avec les deux protons voisins CH_{2b} qui résonnent à δ_H 1.56 sous forme d'un quintuplet avec une constante de couplage de 6.5 Hz. De cette corrélation, on en déduit la présence d'une liaison ($RO-CH_{2a}-CH_{2b}$).
- Deux protons du CH_{2b} à δ_H 1.56 ppm présentent une corrélation avec les deux protons voisins du CH_{2c} à δ_H 1.42 ppm, on en déduit alors une liaison ($CH_{2b}-CH_{2c}$).
- Les deux protons du CH_{2c} à δ_H 1.42 ppm présentent une corrélation avec le méthyle situé à δ_H 0.95 ppm sous forme d'un triplet avec une constante de couplage de 6.9 Hz révèle la présence d'une liaison ($CH_{2c}-CH_3$) (Figure 117).

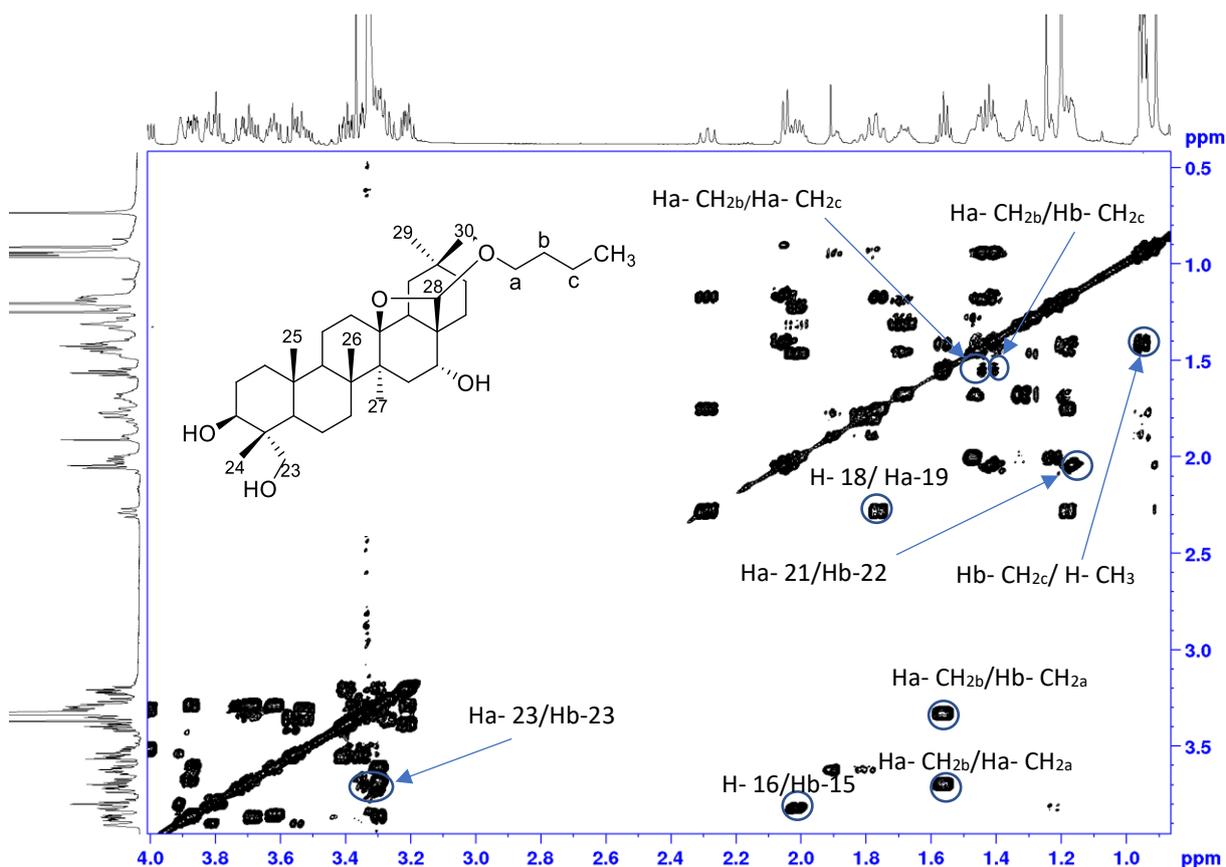


Figure 116 : Spectre COSY de la partie génine des composés **Am 6** et **7**

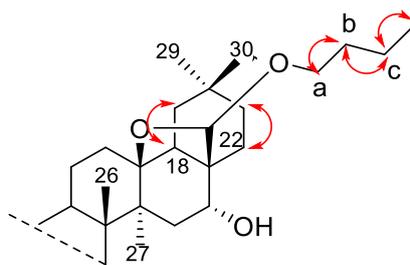


Figure 117 : Corrélations COSY de la partie génine (noyaux D et E) des composés

Am 6 et 7

- Analyse des spectres HSQC des composés Am 6 et Am 7

Les corrélations observées sur les spectres HSQC (Figures 118-120) de **Am 6** et **Am 7**, permettent d'identifier la liaison entre chaque carbone et son proton sur l'enchaînement du groupement butoxy lié en C-28 des composés **Am 6** et **Am 7**.

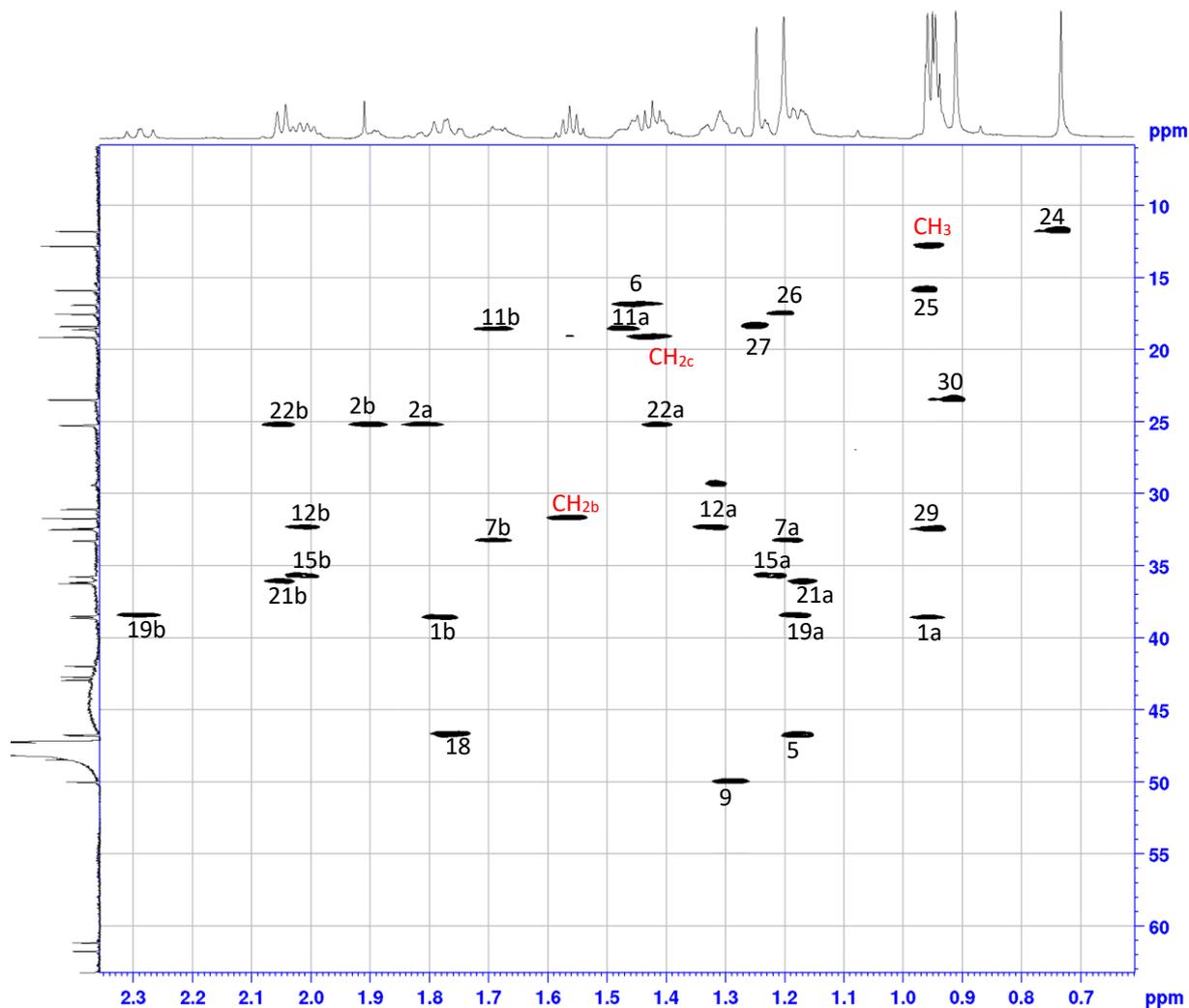


Figure 118a : Spectre HSQC de la partie génine des composés **Am 6** et **7**

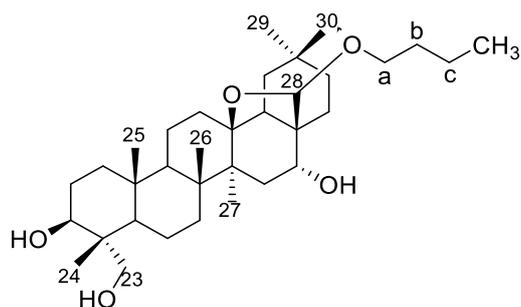


Figure 118b : La partie génine des composés Am 6 et 7

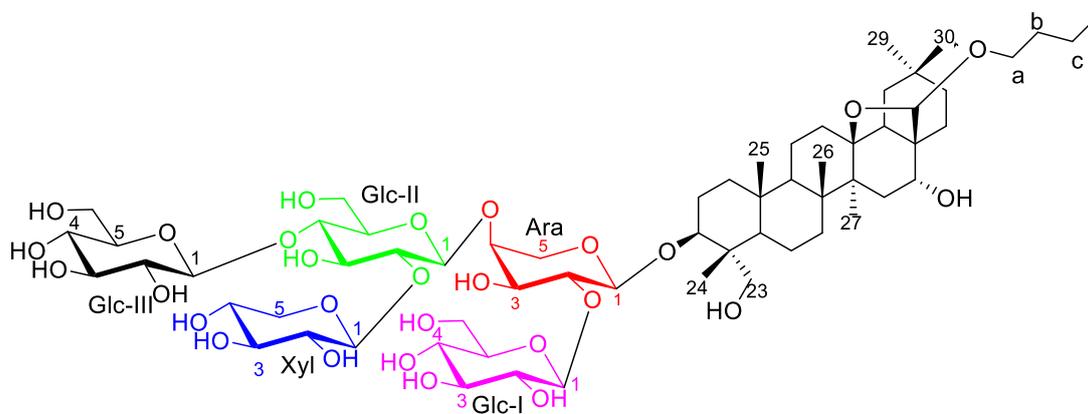
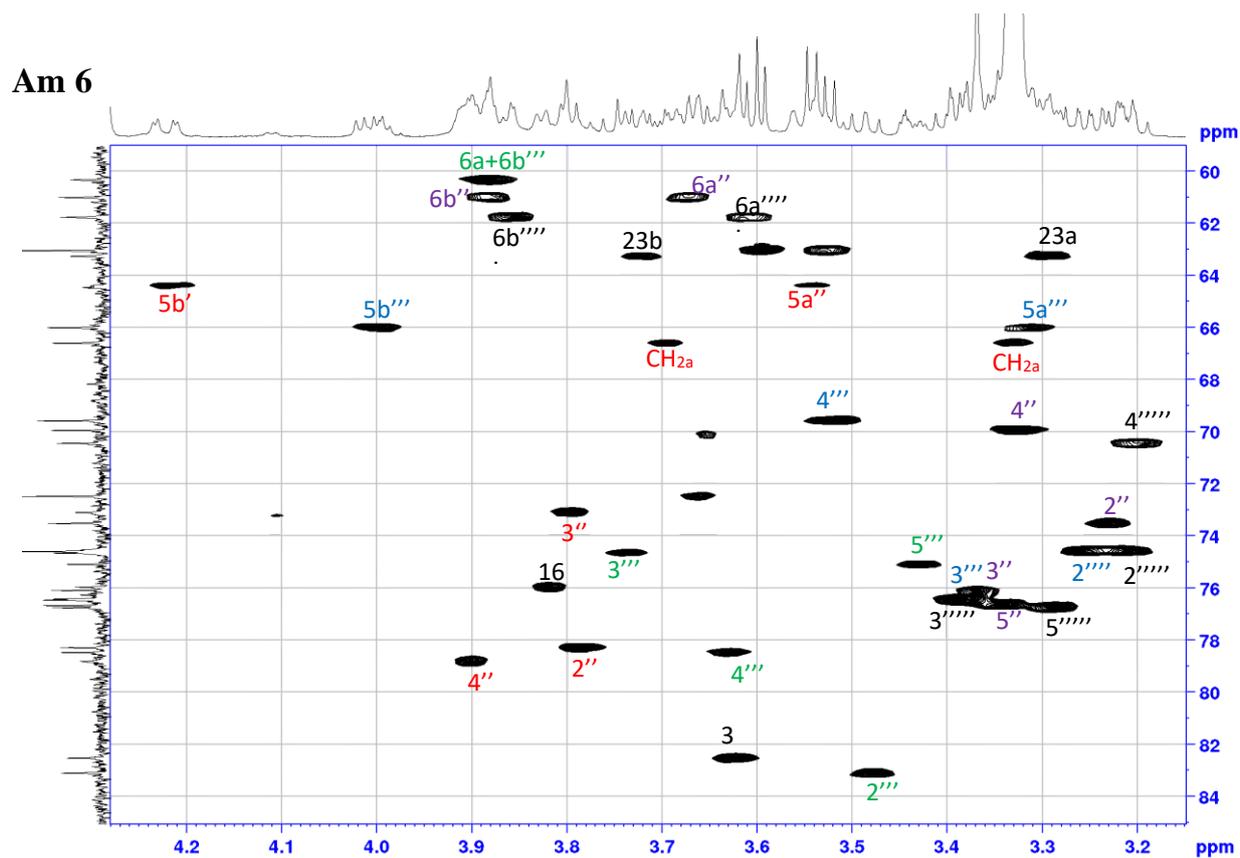


Figure 119 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 6

Am 7

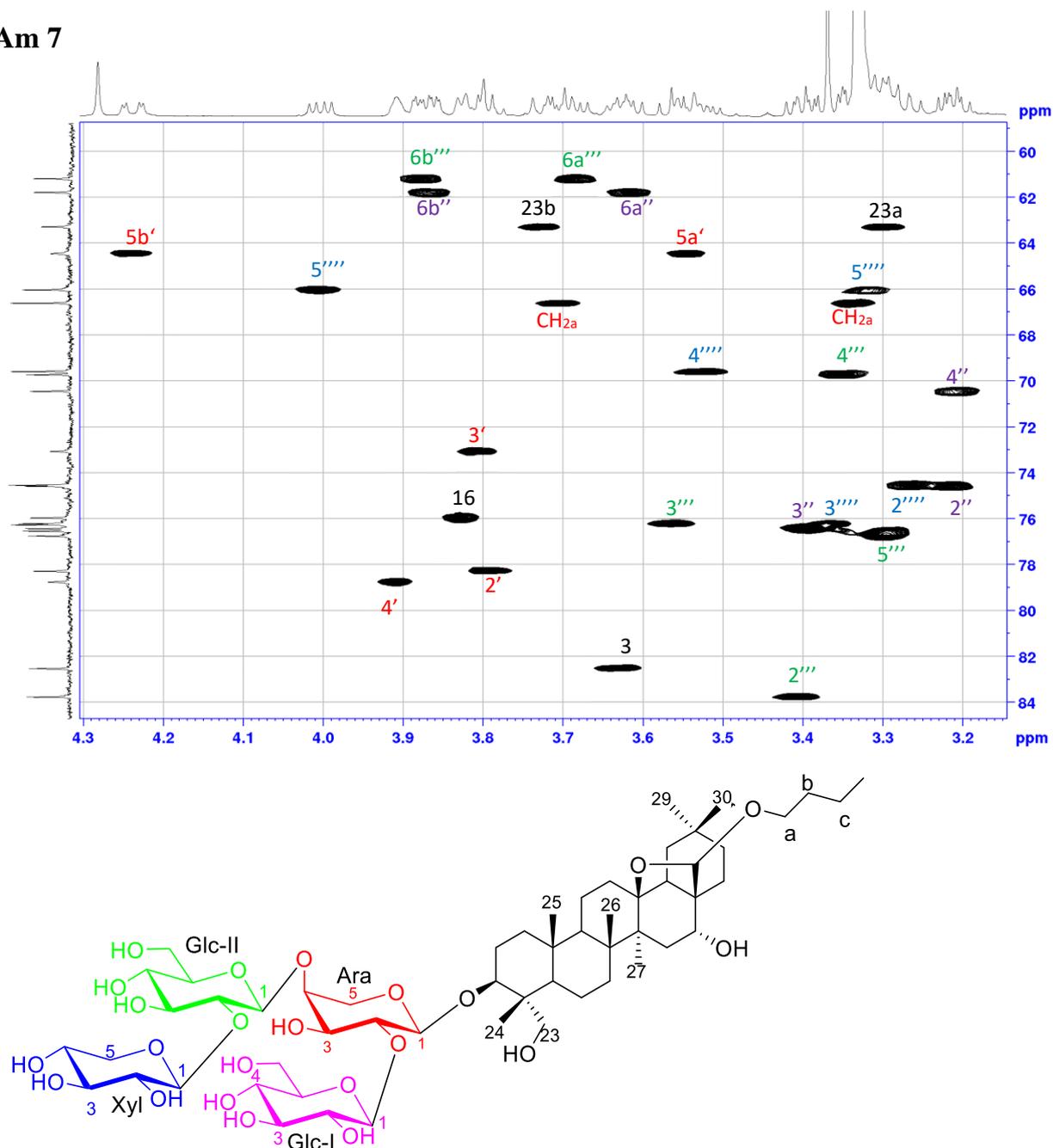


Figure 120 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **Am 7**

- Analyse des spectres *HMBC* des composés **Am 6** et **Am 7**

Les déplacements chimiques des protons de la partie génine sur les spectres *HMBC* (Figures 121-124) des composés **Am 6** et **Am 7** sont identiques.

Le proton H-28 à δ_H 4.28 ppm présente une corrélation avec le carbone C_a du groupement butoxy situé à δ_C 66.5 ppm sur les spectres *HMBC* des composés **Am 6** et **Am 7**, confirmant la présence du groupement butoxy sur la position C-28.

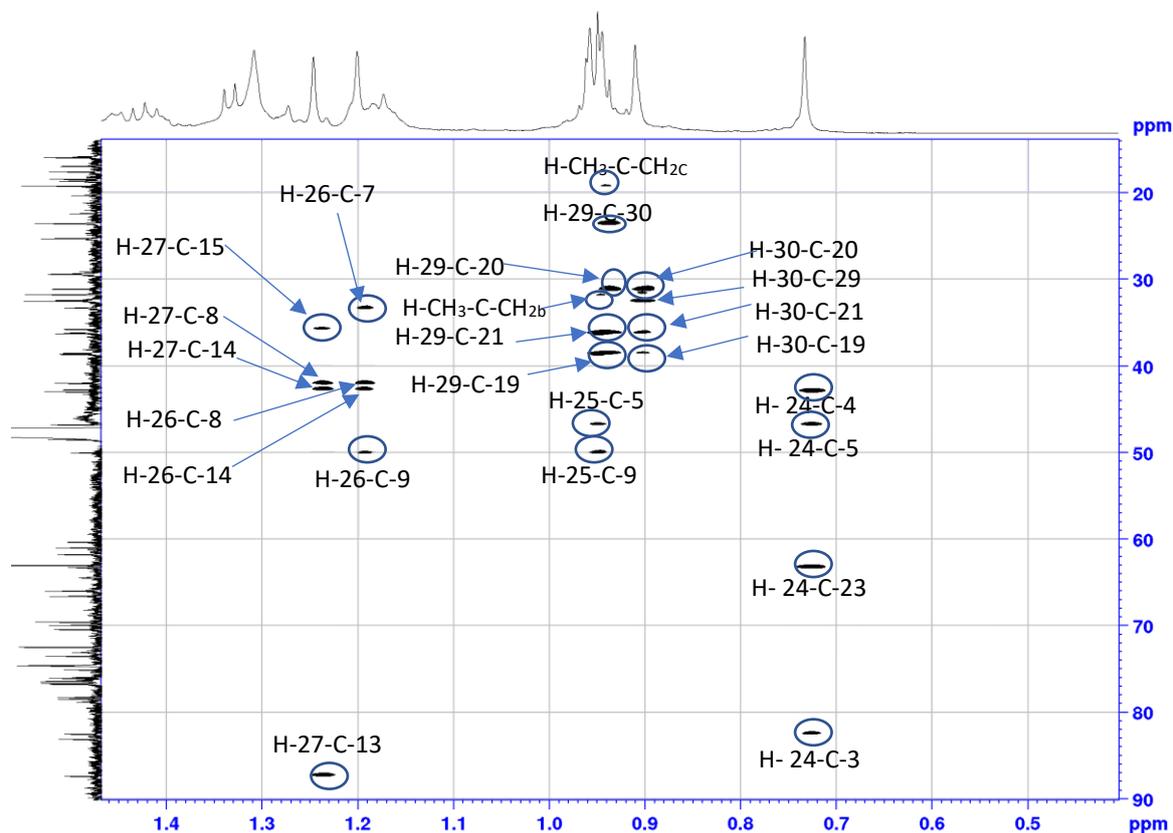


Figure 121 : Spectre HMBC de la partie génine des composés **Am 6** et **7**

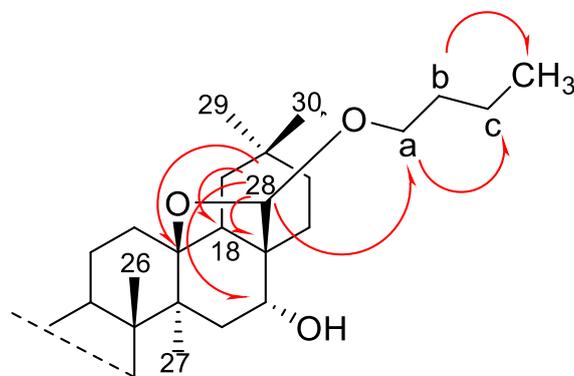


Figure 122 : Corrélations HMBC de la partie génine (noyaux D et E) des composés

Am 6 et **7**.

- Analyse des spectres HMBC de la partie osidique des composés Am 6 et Am 7

Les corrélations observées sur les spectres HMBC de **Am 6** (Figure 123) et **Am 7** (Figure 124) à partir de chaque proton anomérique permettent d'identifier les mêmes enchaînements des unités osidiques que les composés **Am 4** et **Am 5**, respectivement.

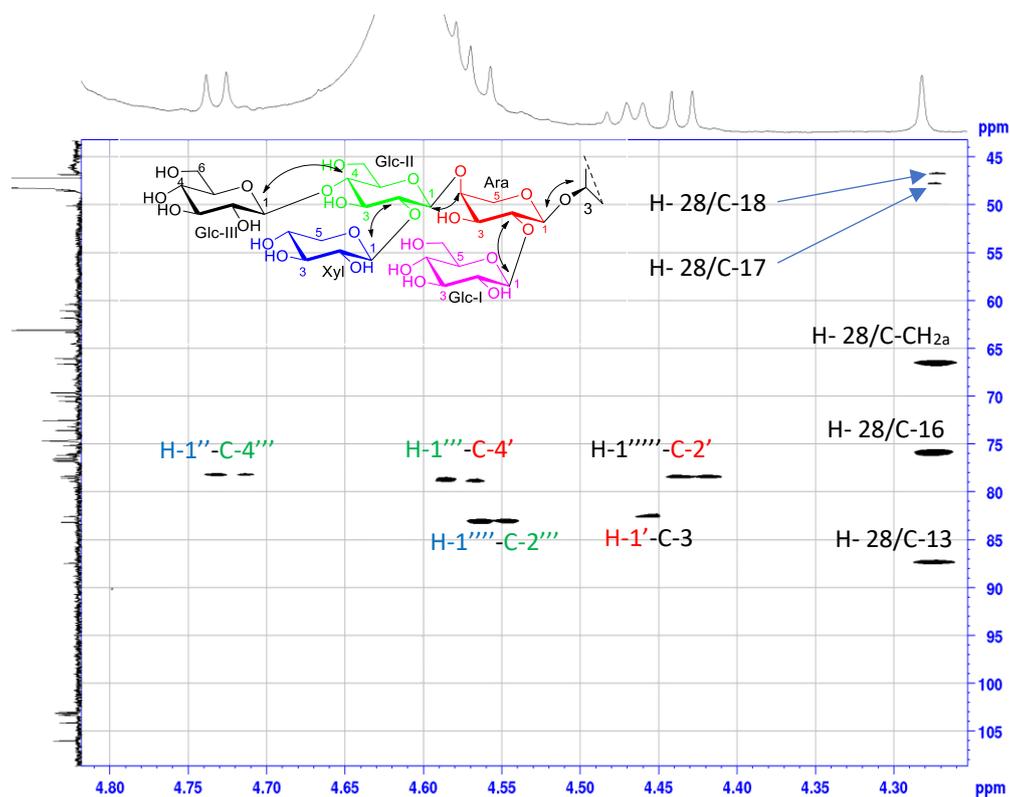


Figure 123 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé Am 6

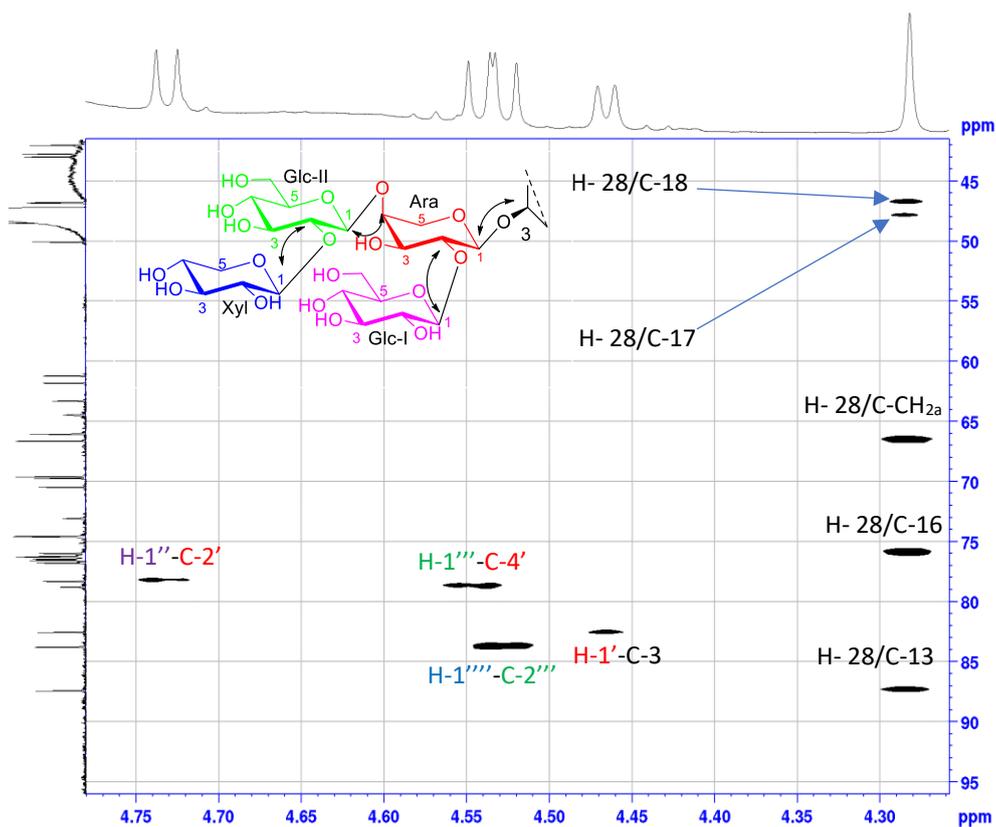
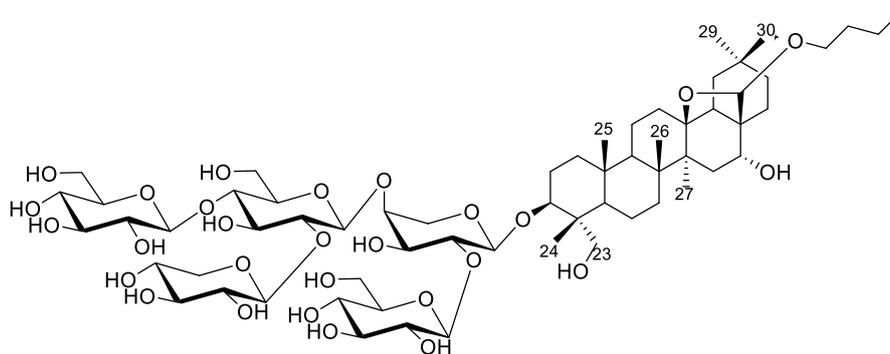


Figure 124 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé Am 7.

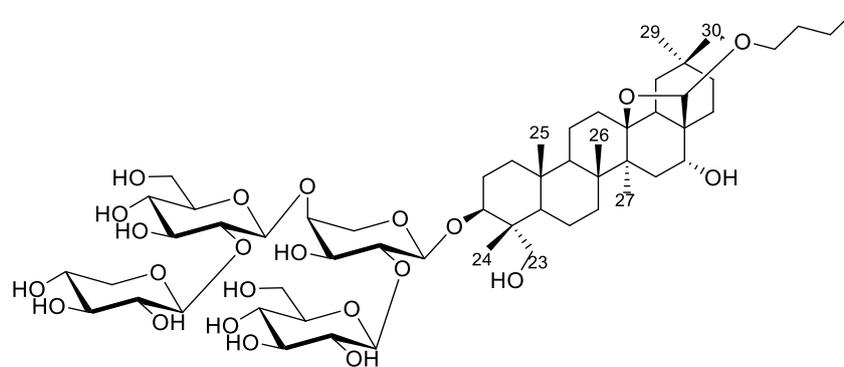
L'ensemble des données spectroscopiques nous ont conduit à proposer pour ces composés les structures suivantes :

Am 6 : 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-butoxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol, nommé **Monelloside F**.

Am 7 : 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-butoxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol, nommé **Monelloside G**.



Am 6



Am 7

Tableau 28: Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 6** dans CD₃OD

Position	6		Position	6	
	δ _C	δ _H		δ _C	δ _H
1	38.6	0.95 m	Ara		
		1.77 m	1'	103.3	4.46 d (6.3)
2	25.2	1.81 m	2'	78.3	3.79 m
		1.89 m			
3	82.5	3.62 m	3'	73.1	3.80 m
4	42.9	–	4'	78.8	3.91 m
5	46.8	1.17 m	5'	64.4	3.55 dd (11.9, 1.5) 4.22 d (11.9)
6	16.9	1.42 m	Glc I		
		1.46 m	1''	102.9	4.73 d (7.7)
7	33.2	1.18 m	2''	73.5	3.21 t (9.2, 7.7)
		1.68 m	3''	76.4	3.39 m
8	41.9	–	4''	70.4	3.21 m
9	50.0	1.28 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.2	–	6''	61.7	3.62 dd (11,9, 4.5) 3.86 dd (11,9, 2.3)
11	18.6	1.47 m 1.68 m	Glc II		
12	32.4	1.31 m 2.02 m	1'''	103.2	4.58 d (7.7)
13	87.4	–	2'''	83.1	3.48 dd (8.9, 7.7)
14	42.7	–	3'''	74.6	3.74 m
15	35.7	1.22 m	4'''	78.5	3.62 t (9.2)
		2.01 m	5'''	75.1	3.44 m
16	75.9	3.82 d (4.6)	6'''	60.3	3.87 m 3.89 m
17	48.0	–	Glc III		
18	46.7	1.76 m	1''''	103.1	4.43 d (8.6)
19	38.5	1.17 m	2''''	74.6	3.24 m
		2.28 t (12.8)			
20	31.1	–	3''''	76.4	3.38 t (8.9)
21	36.1	1.16 m	4''''	69.9	3.33 m
		2.04 m	5''''	76.6	3.34 m
22	25.2	1.41 m 2.04 m	6''''	61.0	3.67 dd (11.6, 3.4) 3.88 m
23	63.2	3.30 m 3.72 m	Xyl		
24	11.7	0.73 s	1'''''	106.0	4.56 d (7.9)
25	15.9	0.95 s	2'''''	74.6	3.26 dd (8.9, 7.9)
26	17.5	1.20 s	3'''''	76.1	3.37 m
27	18.3	1.24 s	4'''''	69.6	3.53 m

Tableau 28 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 6** dans CD_3OD

28	104.1	4.28 brs	5''''	66.0	3.32 t (11.0) 4.00 dd (11.0, 5.5)
29	32.5	0.95 s			
30	23.4	0.91 s			
CH2	66.5	3.33 m 3.70 m			
CH2	31.7	1.56 qt (6.5)			
CH2	19.1	1.42 m			
CH3	12.8	0.95 t (6.9)			

Tableau 29 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 7** dans CD_3OD

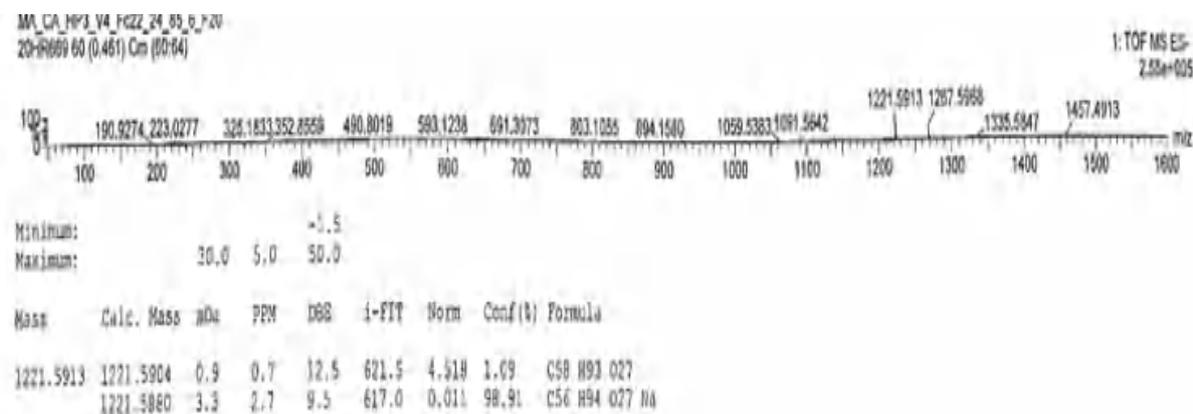
Position	7		Position	7	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.6	0.95 m 1.77 m	Ara		
			1'	103.3	4.46 d (5.4)
2	25.2	1.82 t (12.9) 1.90 m	2'	78.3	3.79 m
3	82.5	3.63 m	3'	73.1	3.80 m
4	42.9	–	4'	78.7	3.91 m
5	46.8	1.18 m	5'	64.4	3.54 m 4.24 dd (12.7, 3.3)
6	16.9	1.42 m 1.43 m	Glc I		
			1''	102.9	4.73 d (7.6)
7	33.2	1.19 m 1.68 m	2''	74.6	3.22 dd (8.8, 7.6)
			3''	76.4	3.39 t (9.2)
8	41.9	–	4''	70.4	3.21 t (9.1)
9	49.9	1.28 m	5''	76.7	3.30 m
10	36.2	–	6''	61.7	3.63 m 3.86 dd (11.9, 4.8)
11	18.6	1.47 m 1.68 m	Glc II		
12	32.4	1.31 t (13.6) 2.01 m	1'''	103.3	4.54 d (7.8)
13	78.4	–	2'''	83.8	3.40 t (8.7)
14	42.7	–	3'''	76.1	3.56 m
15	35.7	1.22 m 2.01 m	4'''	69.7	3.35 m
			5'''	76.5	3.34 m
16	75.9	3.82 m	6'''	60.1	3.69 dd (11.9, 5.7) 3.87 d (11.9, 4.8)
17	44.4	–	Glc III		
18	46.7	1.77 m	1''''		

Tableau 29 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 7** dans CD_3OD

19	38.5	1.18 m 2.29 dd (14.2, 12.6)	2''''		
20	31.0	–	3''''		
21	36.1	1.17 m 2.05 m	4''''		
24	11.7	0.73 s	5''''		
25	15.9	0.96 s	2''''''	74.5	3.27 t (7.9)
26	17.5	1.20 s	3''''''	76.2	3.35 m
27	18.3	1.25 s	4''''''	69.5	3.52 m
28	104.1	4.28 brs	5''''''	66.0	3.31 m 4.00 dd (11.3, 5.4)
29	32.3	0.94 s			
30	23.5	0.91 s			
CH2	66.5	3.34 m 3.71 m			
CH2	31.7	1.56 qt (6.7)			
CH2	19.1	1.42 m			
CH3	12.8	0.95 t (6.9)			

III.1.2.6. Elucidation structurale des composés **Am 8** **Am 9**

Les spectres de masse haute résolution des composés **Am 8** et **Am 9** (Figures 125-126) ont été obtenus en HR-ESI-MS en mode négatif. Ils montrent un pic pseudomoléculaire à m/z 1221.5913 $[\text{M-H}]^-$ (calc 1221.5904) correspondant à la formule brute $\text{C}_{58}\text{H}_{93}\text{O}_{27}$ et à m/z 1059.5370 $[\text{M-H}]^-$ (calc 1059.5376) correspondant à la formule brute $\text{C}_{52}\text{H}_{83}\text{O}_{22}$, respectivement.

**Figure 125 :** Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 8**

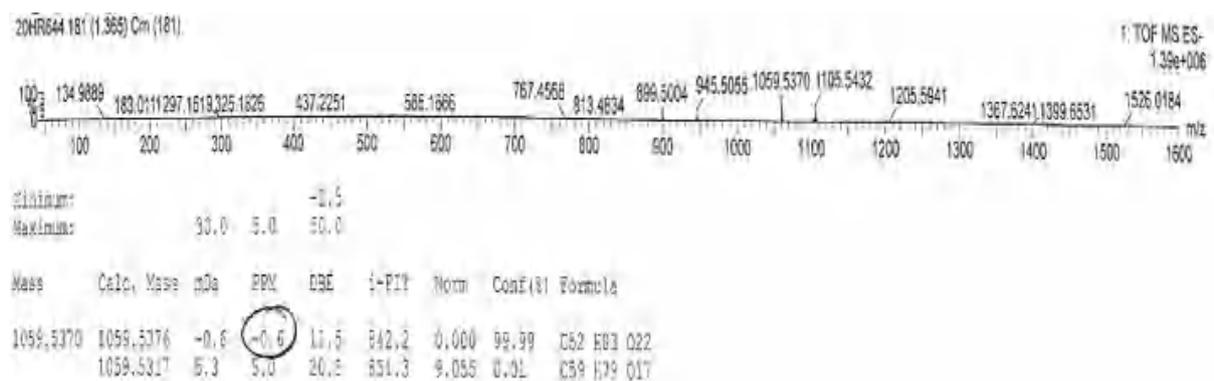


Figure 126 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 9**

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C des composés Am 8 et Am 9

L'analyse des spectres de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 8** et **Am 9** (Figure 127) montre la présence d'un squelette triterpénique (Anagalligénone B), avec une séquence d'enchaînement d'unités osidiques semblable à celle de **Am 4** pour le composé **Am 8**. Cependant il manque le glucose (Glc-I) de cette séquence osidique dans le composé **Am 9**.

- Dans la partie génine :

Les spectres RMN ^{13}C (Figures 128 et 129) des composés **Am 8** et **Am 9** indiquent un nouveau pic à δ_{C} 214.3 ppm dû à un groupement carbonyle avec l'absence des signaux du carbone hydroxylé en C-16 comparativement aux spectres RMN ^{13}C et RMN ^1H de **Am 3**.

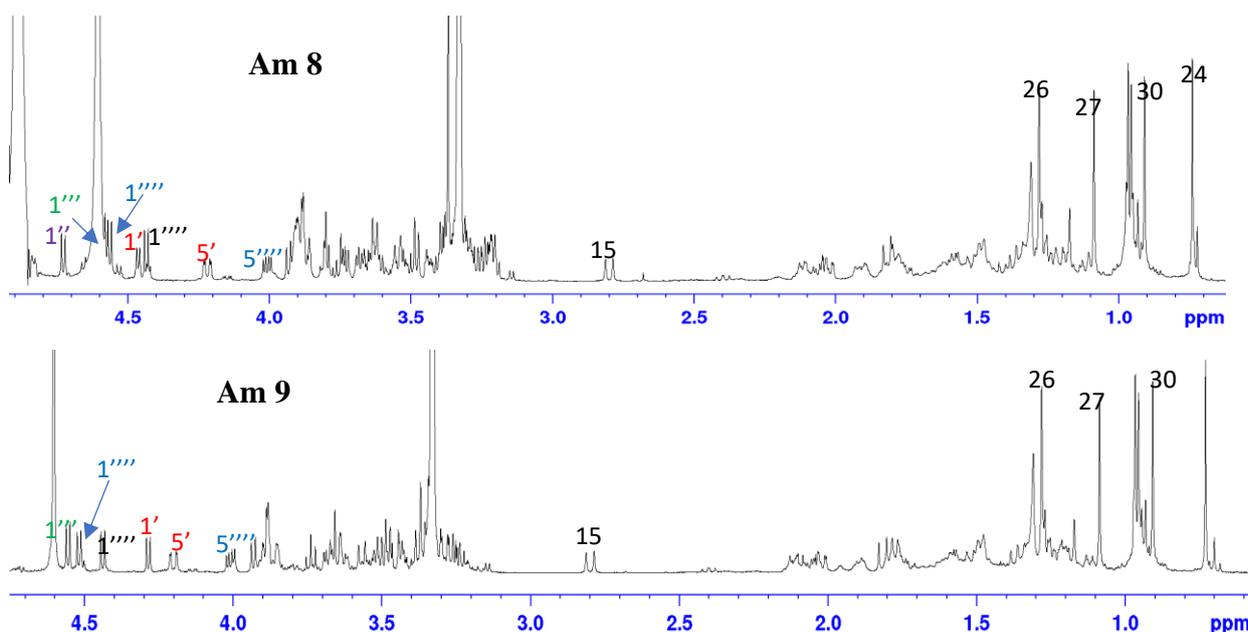


Figure 127 : Spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) des composés **Am 8** et **9**

- Dans la partie osidique :

-le composé **Am 8** (Figure 130) possède la même séquence d'unités osidiques que **Am 4**.

-pour le composé **Am 9** (Figure 130), les signaux relatifs au glucose (Glc-1) de la séquence osidique de **Am 4** ont disparu.

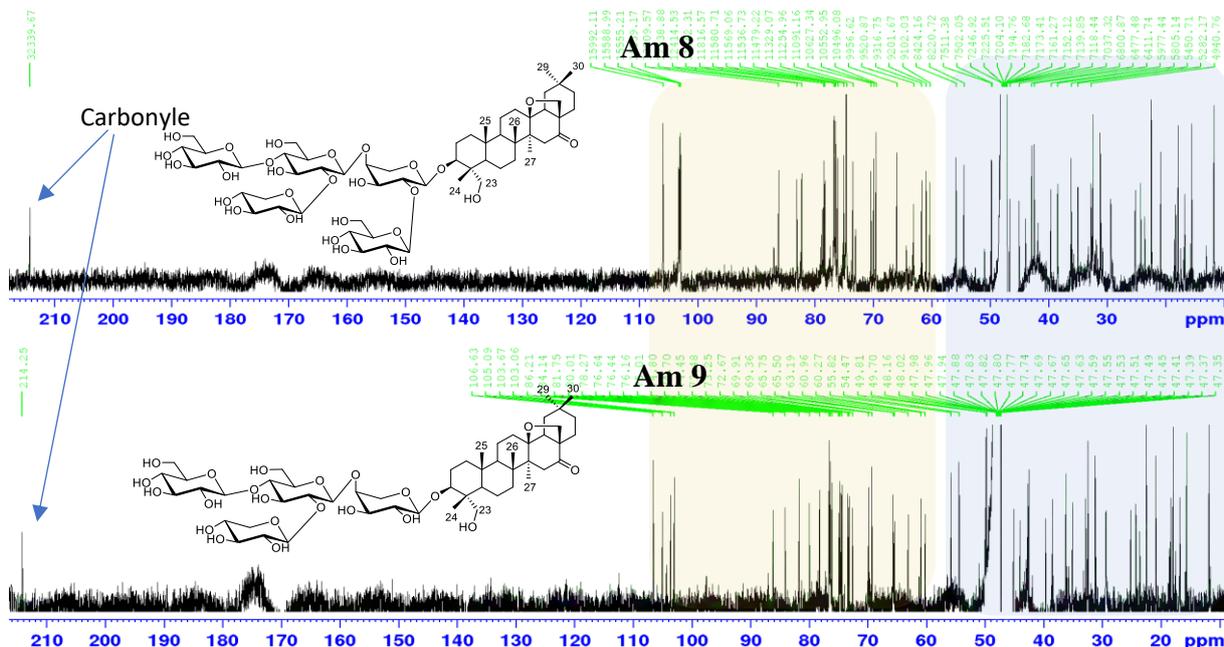


Figure 128 : Spectres RMN ^{13}C (150MHz, CD_3OD) de la partie génine des composés **Am 8 et 9**.

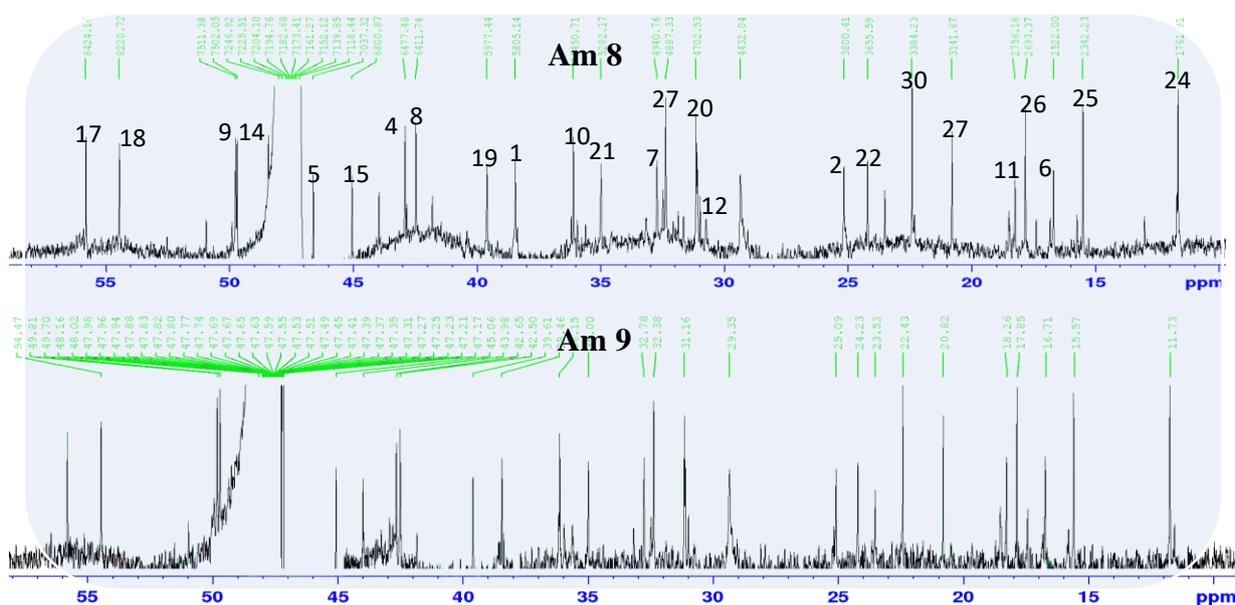


Figure 129 : Spectres RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de la partie génine des composés **Am 8 et 9**.

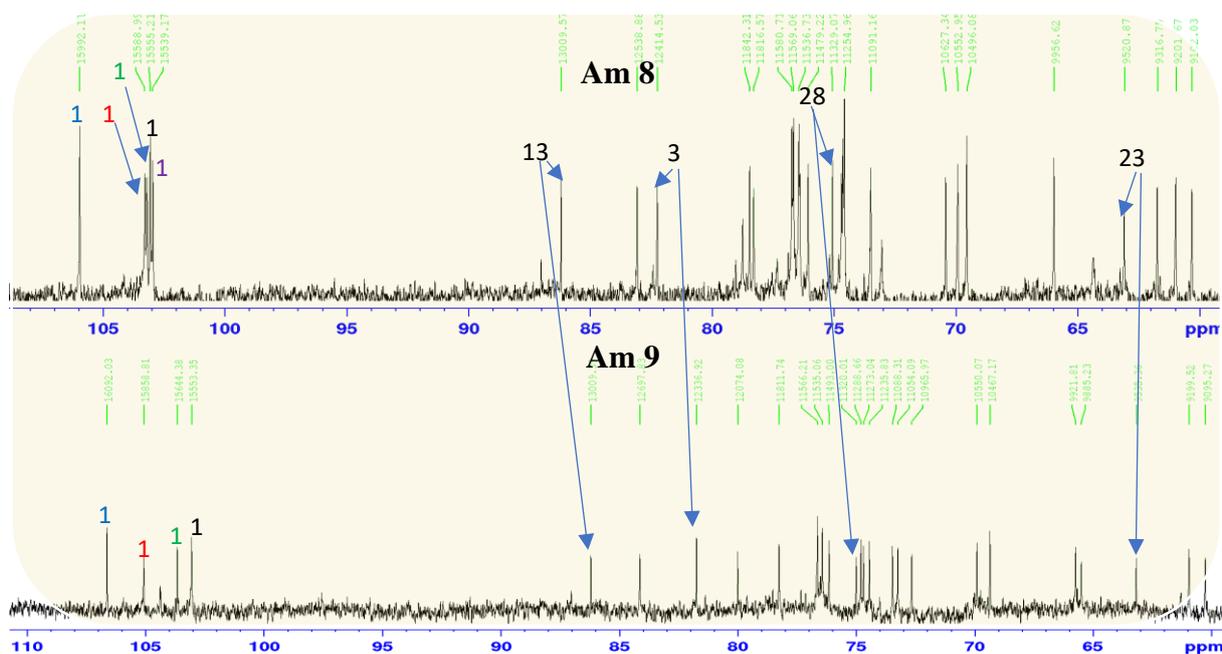


Figure 130 : Spectres RMN ^{13}C (CD₃OD) de la partie osidique des composés **Am 8** et **9**.

- Analyse de spectres COSY des composés **Am 8** et **Am 9**

Les déplacements chimiques des protons de la partie la génine sur le spectre COSY (Figure 132) des composés **Am 8** et **Am 9** sont identiques. La majorité des corrélations produites par les protons des cycles A, B, C des saponines **Am 8** et **Am 9** sont observées aux mêmes positions que dans le cas de **Am 3**.

A cause de l'absence du signal du proton porté par le carbone C-16, les signaux attribués aux protons géminés en C-15 apparaissent sous forme de doublet dont l'un est très déblindé à δ_{H} 2.80 ppm et l'autre à δ_{H} 1.81 ppm avec une constante de couplage géminée de $J = 15.8$ Hz. Cela peut indiquer que le carbonyle mentionné est localisé en C-16 (Figure 131).

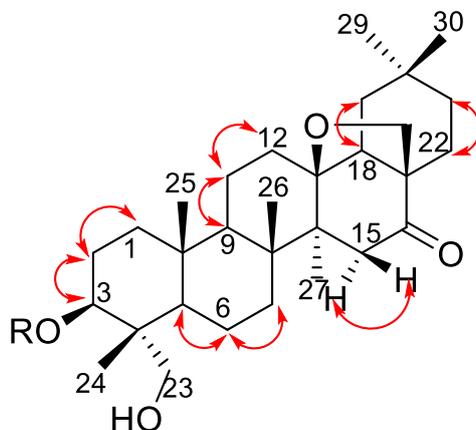


Figure 131 : Corrélations COSY de la partie génine des composés **Am 8** et **9**.

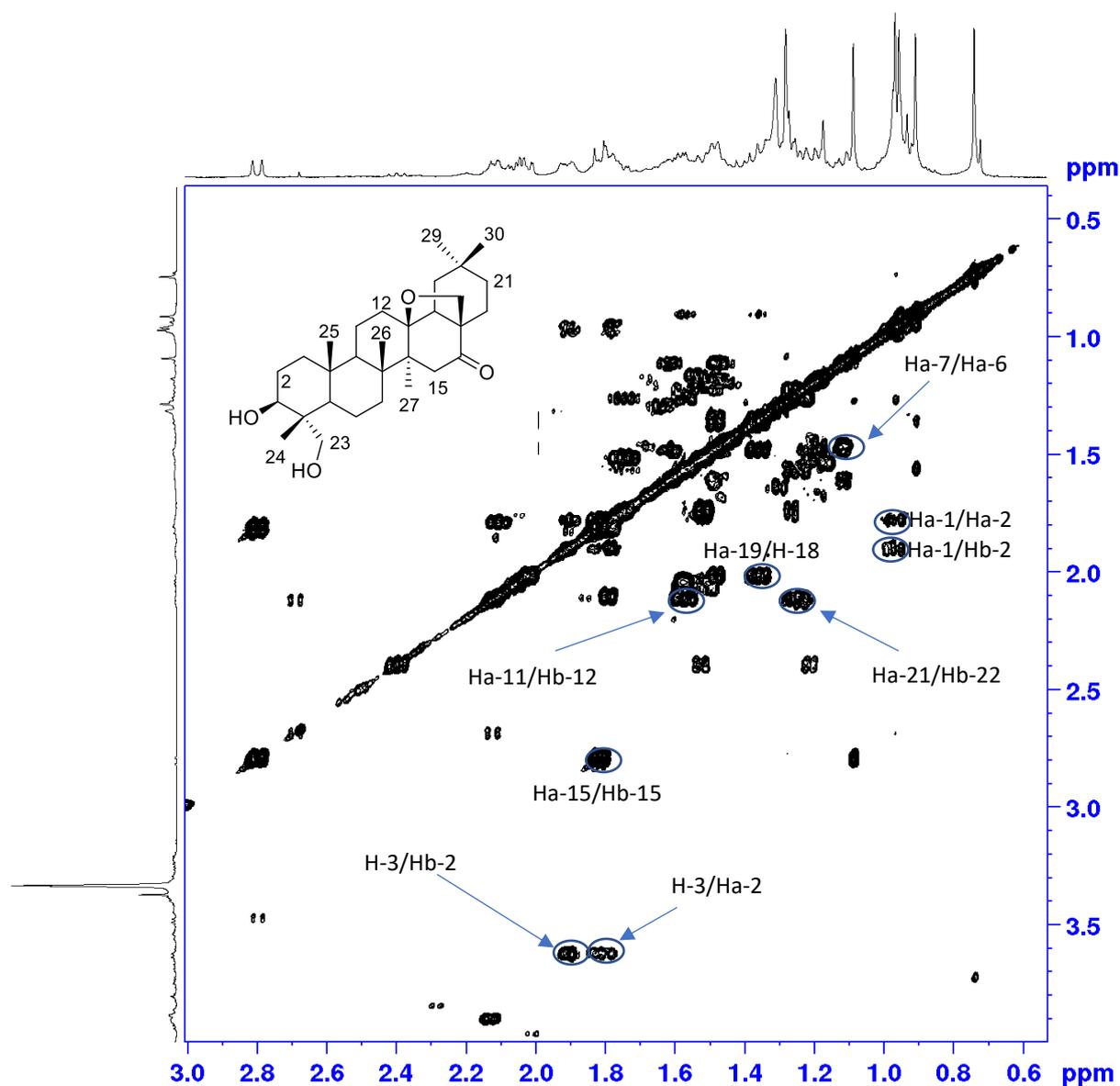


Figure 132 : Spectre COSY de la partie génine des composés **Am 8** et **9**.

- Analyse des spectres HSQC des composés **Am 8** et **Am 9**

A l'aide des spectres HSQC (Figures 133-134) de **Am 8** et **Am 9** sont attribués les carbones suivants correspondants aux protons attribués après analyse des spectres COSY : C-1 (δ_C 38.5), C-2 (δ_C 25.2) et C-3 (δ_C 82.3) du cycle A, C-9 (δ_C 49.8), C-11 (δ_C 18.3), C-12 (δ_C 31.1) du cycle C, C-18 (δ_C 54.5). Ainsi pour le cycle E, le carbone C-19 situé à δ_C 39.6 ppm. Les méthyles CH₃-29 et CH₃-30 sont également localisés à δ_C 32.4 et 22.4 ppm, respectivement.

L'attribution des carbones des unités osidiques du composé **Am 8** (Figure 134) confirment que ce composé possède les mêmes unités osidiques que **Am 4**.

L'attribution des carbones des unités osidiques du composé **Am 9** (Figure 135), montre l'absence des signaux relatifs au glucose (Glc-I).

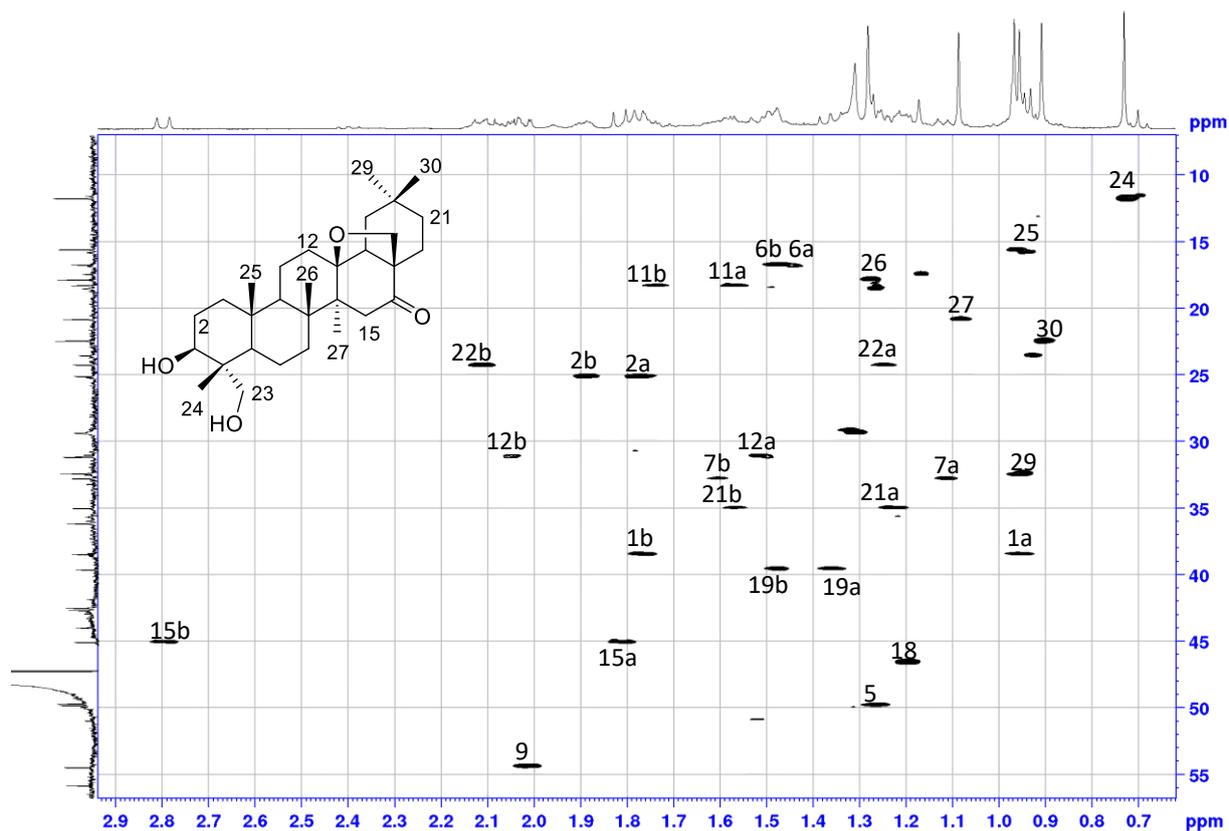


Figure 133 : Spectre HSQC de la partie génine des composés Am 8 et 9.

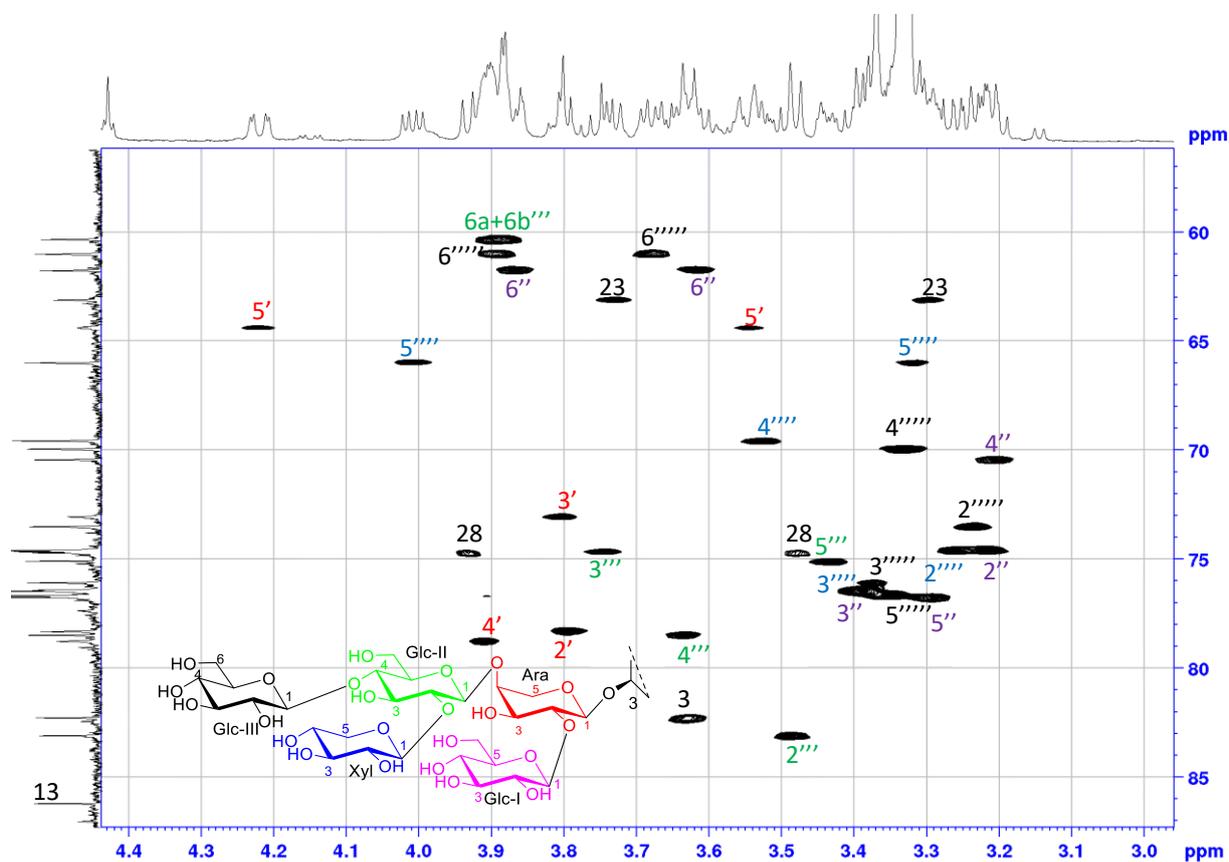


Figure 134 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé Am 8

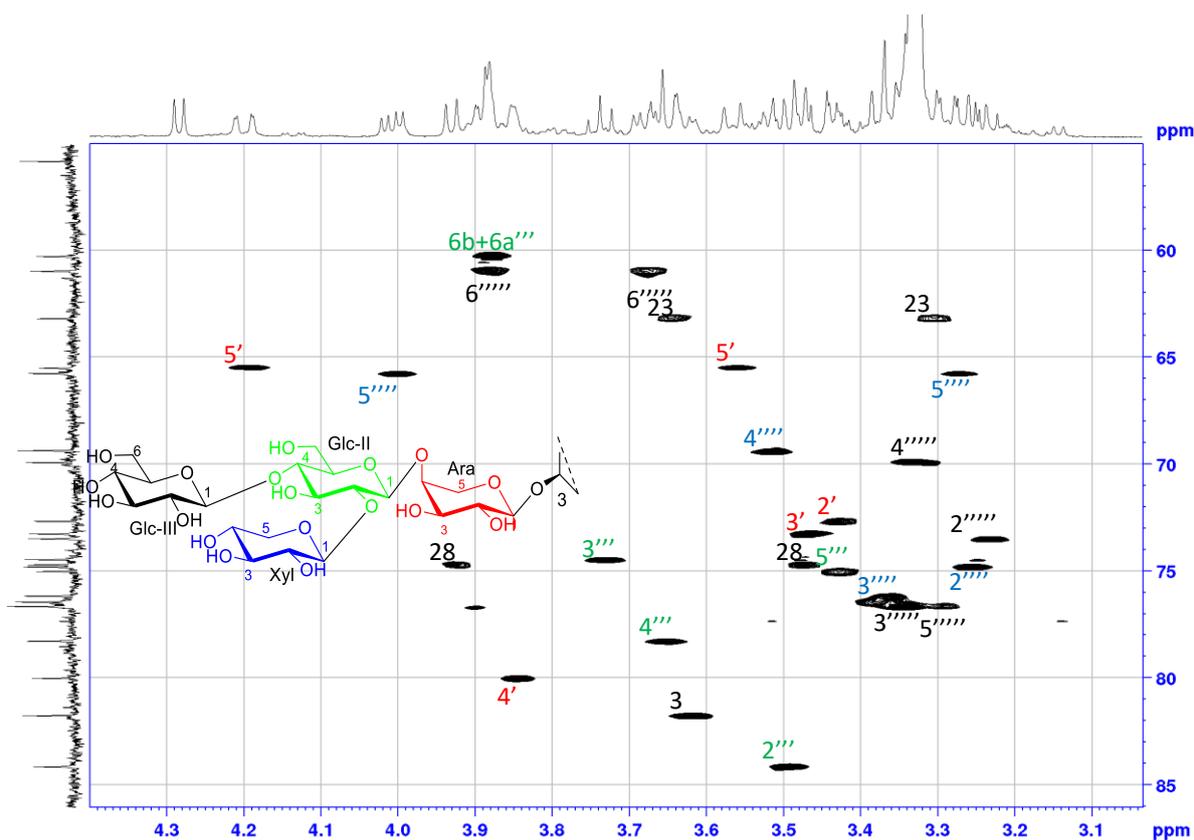


Figure 135 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **Am 9**

- Analyse de spectres HMBC des composés Am 8 et Am 9

Les deux protons géminés H₂-15 présentent une corrélation avec un pic à δ_c 214.3 ppm sur le spectre HMBC (Figure 137) confirmant la position du carbonyle en C-16. Ce même pic attribué au carbonyle est corrélé aux 2 protons H₂-28 du cycle pyranique (Figure 136).

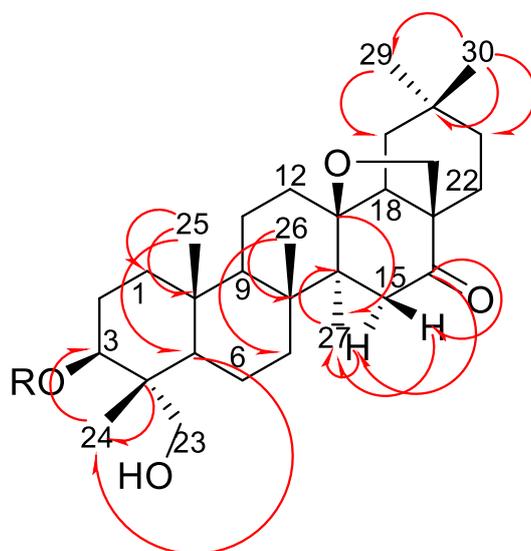


Figure 136 : Corrélations HMBC de la partie génine des composés **Am 8 et 9**.

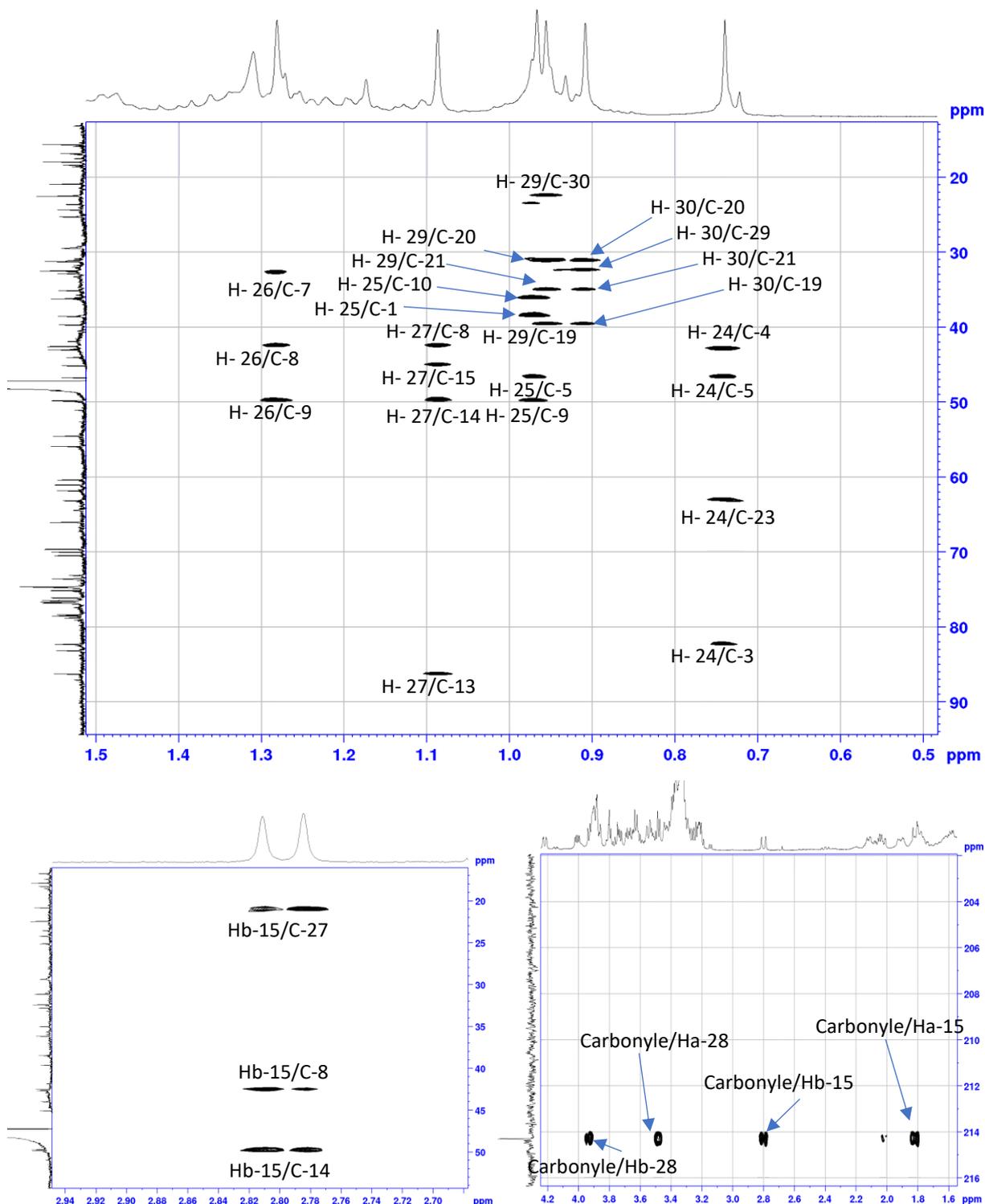


Figure 137 : Spectre HMBC de la partie génine des composés **Am 8** et **9**.

- Analyse du spectre HMBC de la partie osidique des composés Am 8 et Am 9

Les corrélations observées sur les spectres HMBC (Figure 138) de **Am 8** et **Am 9** à partir de chaque proton anomérique permet d'identifier l'enchaînement de 4 unités osidiques pour le composé **Am 9** et 5 unités osidiques le composé **Am 8**. Cette séquence a été observée dans le composé **Am 2**. Cependant, on la trouve sans le glucose (Glc-I) dans le composé **Am 9**.

Le composé Am 9

- La corrélation entre le proton H-1' de l'arabinose (Ara) et le carbone C-3 de l'Anagalligénone B montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.
- Le proton H-1''' du glucose (Glc-II) corréle avec le carbone C-4' de l'arabinose (Ara).
- Le proton H-1'''' du xylose (Xyl) corréle avec le carbone C-2'' du glucose (Glc-II) lié à l'arabinose.
- Le proton H-1''''' du glucose (Glc-III) corréle avec le carbone C-4'' du glucose (Glc-II) lié à l'arabinose.

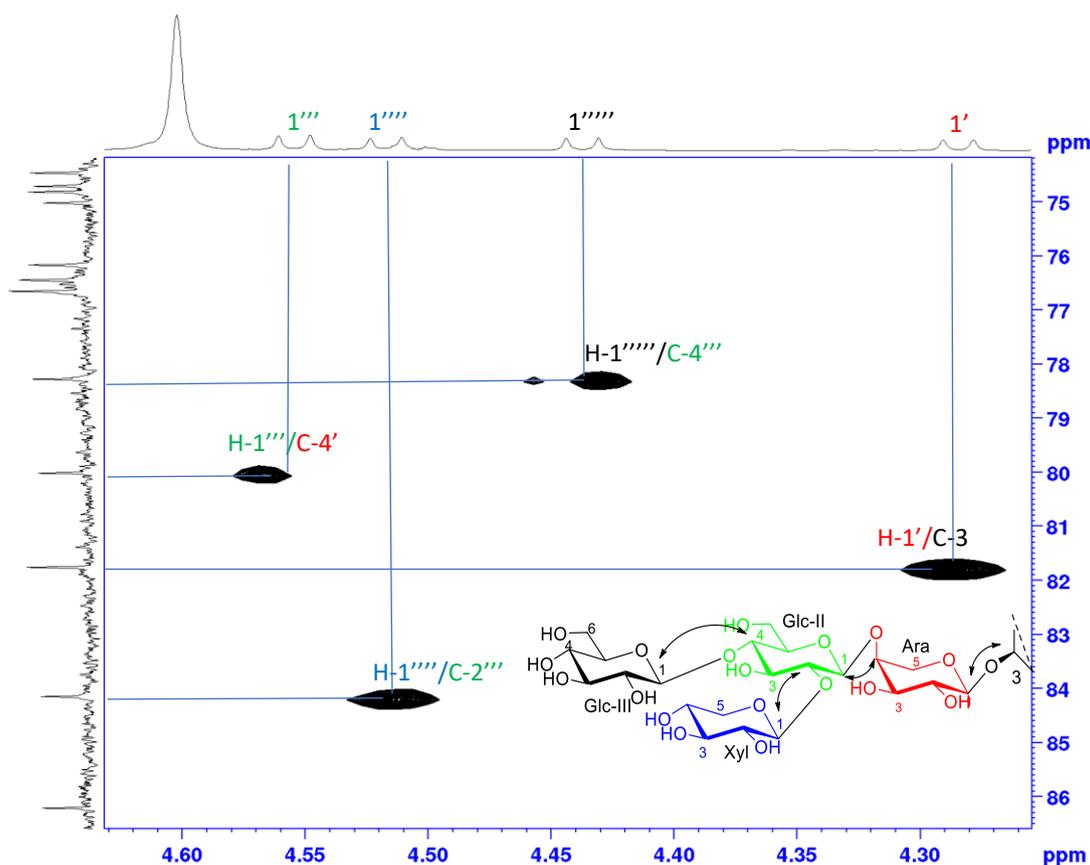


Figure 138 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé **Am 9**.

L'ensemble des données spectroscopiques a conduit à proposer pour ces composés les structures suivantes :

Am 8 : 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinoside-13,28-époxy-3 β ,23 α -dihydroxyoléanan-16-one, nommé **Monelloside H**.

Am 9 : 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-3 β ,23 α -dihydroxyoléanan-16-one, nommé **Monelloside I**.

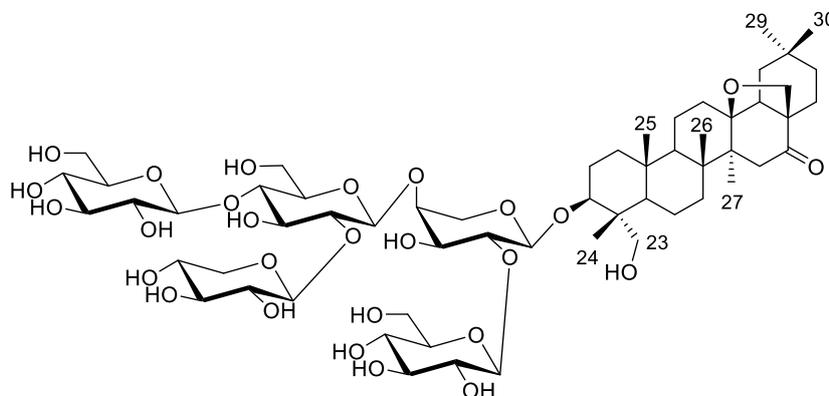
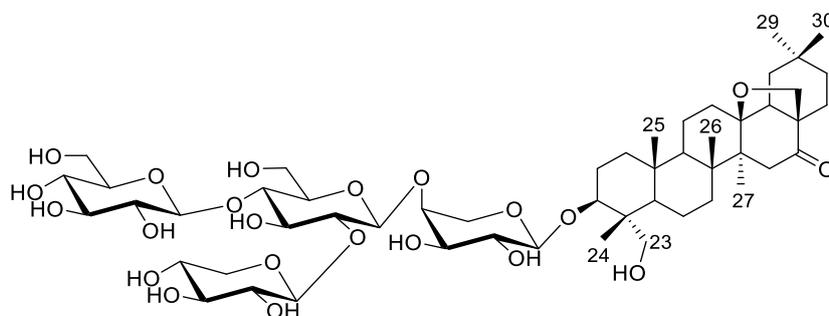
**Am 8****Am 9**

Tableau 30: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) des saponosides **Am 8** dans CD_3OD

Position	8		Position	8	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	0.97 m 1.78 m	Ara		
2	25.2	1.81 m 1.90 m	1'	103.3	4.46 d (6.1)
3	82.3	3.63 d (8.9)	2'	78.3	3.79 m
4	42.9	—	3'	73.1	3.80 m
5	46.6	1.18 dd (10.2, 2.9)	4'	78.7	3.91 m
6	16.7	1.47 m 1.49 m	5'	64.4	3.55 m 4.22 dd (12.7, 2.8)
7	32.7	1.11 dt (12.7, 3.2) 1.62 m	Glc I		
8	42.5	—	1''	102.9	4.72 d (7.7)
			2''	74.6	3.21 t (8.9)
			3''	76.4	3.39 t (9.4)
			4''	70.4	3.20 t (9.4)

Tableau 30 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 8** dans CD_3OD .

9	49.8	1.26 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.1	–	6''	61.7	3.61 dd (11,9, 6.6) 3.86 dd (11,9, 2.0)
11	18.3	1.57 m 1.74 m	Glc II		
12	31.1	1.51 m 2.05 m	1'''	103.2	4.58 d (7.7)
13	86.2	–	2'''	83.1	3.49 dd (8.9, 7.7)
14	49.7	–	3'''	74.6	3.74 t (9.1)
15	45.0	1.81 d (15.8) 2.80 d (15.8)	4'''	78.5	3.63 t (9.4)
			5'''	75.1	3.44 m
16	214.3	-	6'''	60.3	3.87 m 3.89 m
17	55.8	–	Glc III		
18	54.5	2.02 dd (12.1, 2.7)	1''''	103.1	4.43 d (7.9)
19	39.6	1.36 t (13.8) 1.48 m	2''''	73.5	3.24 dd (8.8, 7.9)
20	31.1	–	3''''	76.1	3.37 m
21	35.0	1.23 m 1.57 m	4''''	69.9	3.33 m
			5''''	76.7	3.43 m
22	24.2	1.25 m 2.11 d (11.7)	6''''	60.9	3.68 dd (11.9, 5.6) 3.89 m
23	63.1	3.29 m 3,73 d (11.3)	Xyl		
24	11.7	0.74 s	1'''''	105.9	4.52 d (7.6)
25	15.5	0.96 s	2'''''	74.5	3.27 t (7.9)
26	17.8	1.28 s	3'''''	76.2	3.35 m
27	20.8	1.08 s	4'''''	69.5	3.52 m
28	74.7	3.48 d (8.4) 3.93 d (8.4)	5'''''	66.0	3.31 m
					4.00 dd (11.3, 5.4)
29	32.4	0.95 s			
30	22.4	0.91 s			

Tableau 31 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 9** dans CD_3OD

Position	9		Position	9	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	0.95 m	Ara	105.1	4.28 d (7.2)
		1.76 m			
2	25.1	1.77 m	2'	72.7	3.43 m
		1.90 m			
3	81.7	3.63 dd (12.0, 4.8)	3'	73.2	3.47dd (9.2,4.0)
4	42.7	–	4'	80.0	3.85 dm (2.8)

Tableau 31 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 9** dans CD_3OD

5	46.7	1.19 dd (9.5, 5.3)	5'	65.5	3.56 d (12.8) 4.20 dd (12.8, 2.0)
6	16.7	1.47 m 1.49 m	Glc I		
			1''		
7	32.8	1.11 dt (12.7, 3.2) 1.60 m	2''		
			3''		
8	42.5	–	4''		
9	49.8	1.26 m	5''		
10	36.1	–	6''		
11	18.3	1.57 m 1.74 m	Glc II		
12	31.1	1.51 m 2.05 m	1'''	103.7	4.56 d (8.0)
13	86.2	–	2'''	84.1	3.50 dd (9.0, 8.0)
14	49.7	–	3'''	74.5	3.74 t (9.0)
15	45.0	1.81 d (15.8) 2.80 d (15.8)	4'''	78.3	3.66 t (9.2)
			5'''	75.0	4.43 m
16	214.3	-	6'''	60.3	3.87 m 3.89 m
17	55.8	–	Glc III		
18	54.5	2.01 dd (13.8, 3.2)	1''''	103.1	4.44 d (7.6)
19	39.6	1.36 t (13.8) 1.48 m	2''''	73.5	3.24 t (8.8)
20	31.1	–	3''''	76.4	3.37 t (9.7)
21	35.0	1.23 m 1.57 m	4''''	69.9	3.32 m
			5''''	76.6	3.30 m
22	24.2	1.25 m 2.11 dt (12.7, 2.1)	6''''	61.0	3.68 dd (12.0, 5.6) 3.89 dd (12.0, 2.0)
23	63.1	3.31 m 3,65 d (11.1)	Xyl		
24	11.7	0.75 s	1'''''	106.6	4.56 d (7.6)
25	15.6	0.96 s	2'''''	74.8	3.25 t (8.1)
26	17.8	1.28 s	3'''''	76.2	3.37 m
27	20.8	1.08 s	4'''''	69.4	3.52 m
28	74.7	3.48 d (8.5) 3.93 d (8.5)	5'''''	65.7	3.32 m 4.00 dd (11.4, 5.4)
29	32.4	0.95 s			
30	22.4	0.91 s			

III.1.2.7. Elucidation structurale du composé Am 10

Le spectre de masse haute résolution du composé **Am 10** (Figure 139) a été obtenu en HR-ESI-MS mode négatif et montre un pic pseudomoléculaire à m/z 1221.5911 $[M-H]^-$ (calc 1221.5904) correspondant à la formule brute $C_{58}H_{93}O_{27}$.

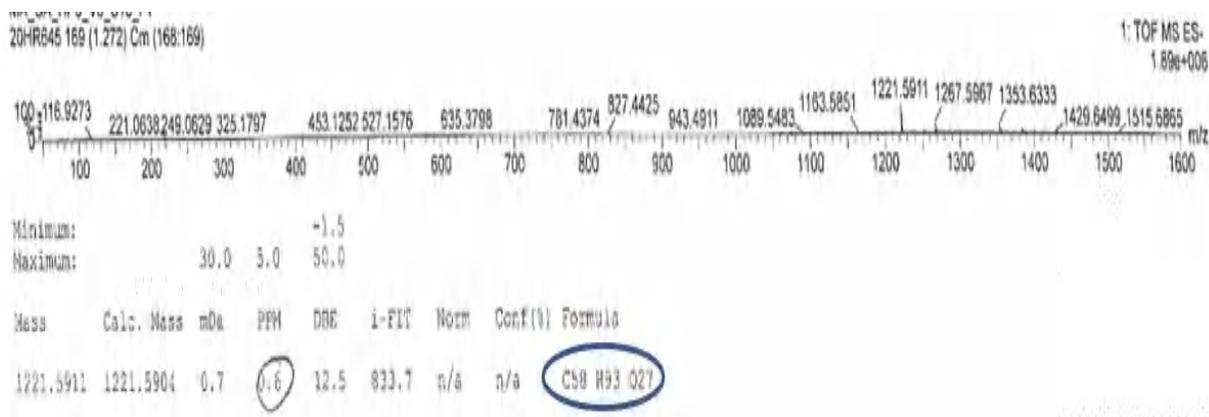


Figure 139 : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé **Am 10**

- Analyse du spectre de RMN 1H du composé Am 10

L'analyse du spectre de RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) de **Am 10** (Figure 140), nous suggère la présence d'un squelette triterpénique avec la partie osidique du composé **Am 4** :

- six singulets d'intégration 3H chacun entre δ_H 0.70 et 1.45 ppm (0.75, 0.76, 0.93, 0.98, 1.00 et 1.41) correspondant à six méthyles tertiaires angulaires.
- des groupements aliphatiques CH et CH_2 de la génine apparaissent dans la zone entre δ_H 1.00 et 9.3 ppm.
- le proton H-3 résonne à δ_H 3.63 ppm sous la forme d'un multiplet.
- un proton oléfinique résonant à δ_H 5.41 ppm sous forme de triplet ($J=3.6$ Hz), correspond au proton H-12 caractéristique de l'insaturation $\Delta^{12,13}$.
- un proton résonant sous la forme d'un doublet de doublets ($J=14.5, 3.9$ Hz) à δ_H 2.68 ppm attribuable à H-18, qui pourrait indiquer une génine de type oléanane.
- la présence d'un signal sous forme d'un triplet à δ_H 4.29 ppm ($J=3.6$ Hz) correspondant à un méthine hydroxyle (CHOH), attribué au proton H-16.
- la présence d'un signal sous forme d'un singulet à δ_H 9.23 ppm indique la présence d'un aldéhyde (CHO), attribué au proton H-28.
- cinq protons anomériques résonant sous forme d'un doublet à δ_H 4.46 ppm ($J=6.4$ Hz), δ_H 4.73 ppm ($J=7.7$ Hz), δ_H 4.59 ppm ($J=7.7$ Hz), δ_H 4.43 ppm ($J=7.9$ Hz) et δ_H 4.56 ppm ($J=7.9$ Hz)

- un ensemble de signaux dans la zone comprise entre δ_H 3.2 et 4.8 ppm qui sont des groupements méthines et méthylènes hydroxylés des sucres.

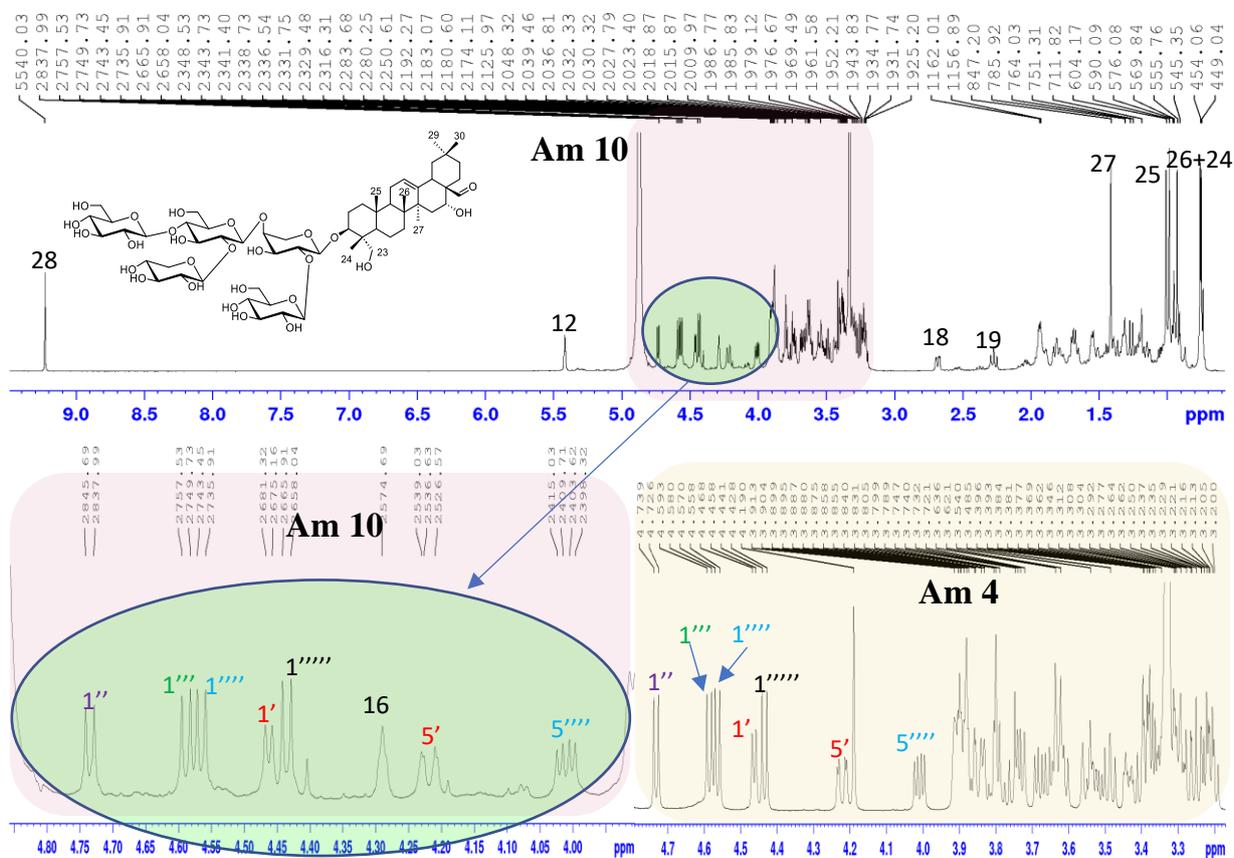


Figure 140 : Spectre de RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **Am 10** avec agrandissements des parties osidiques de **Am 10** et **Am 4**

- Analyse du spectre de RMN ^{13}C du composé **Am 10**

Le spectre de RMN ^{13}C (Figure 141) enregistré à 150 MHz a permis de distinguer les carbones suivants :

- Un carbonyle à δ_C 205.6 ppm attribué au carbonyle en position 28 (C-28).
- Deux signaux à δ_C 123.0 et 142.9 correspondant aux carbones de la double liaison $\Delta^{12,13}$.
- Des groupements aliphatiques CH, CH_2 , CH_3 et carbones quaternaires de la génine résonant entre δ_C 17.9 et 82.4 ppm.
- Un ensemble de carbones dont les déplacements chimiques se situent entre δ_C 60 et 86 ppm attribuables aux carbones osidiques.
- Des carbones anomériques à δ_C 103.0, 103.1, 103.2, 103.3 et 106.0 ppm.

Ce premier constat permet de déduire que le composé **Am 10** est constitué d'une génine du type oléanène triterpénique di-hydroxylée et substituée par cinq hexoses. Le signal du carbone C-28

observé à δ_c 205.6 ppm, permet de confirmer la présence d'un aldéhyde. Le signal du carbone C-23 observé à δ_c 63.2 ppm permet d'indiquer la présence du groupement OH sur le carbone 23. Le carbone C-3 déblindé à δ_c 82.4 ppm par rapport au signal de celui de la génine libre (≈ 75 ppm) est engagée dans une liaison glycosidique.

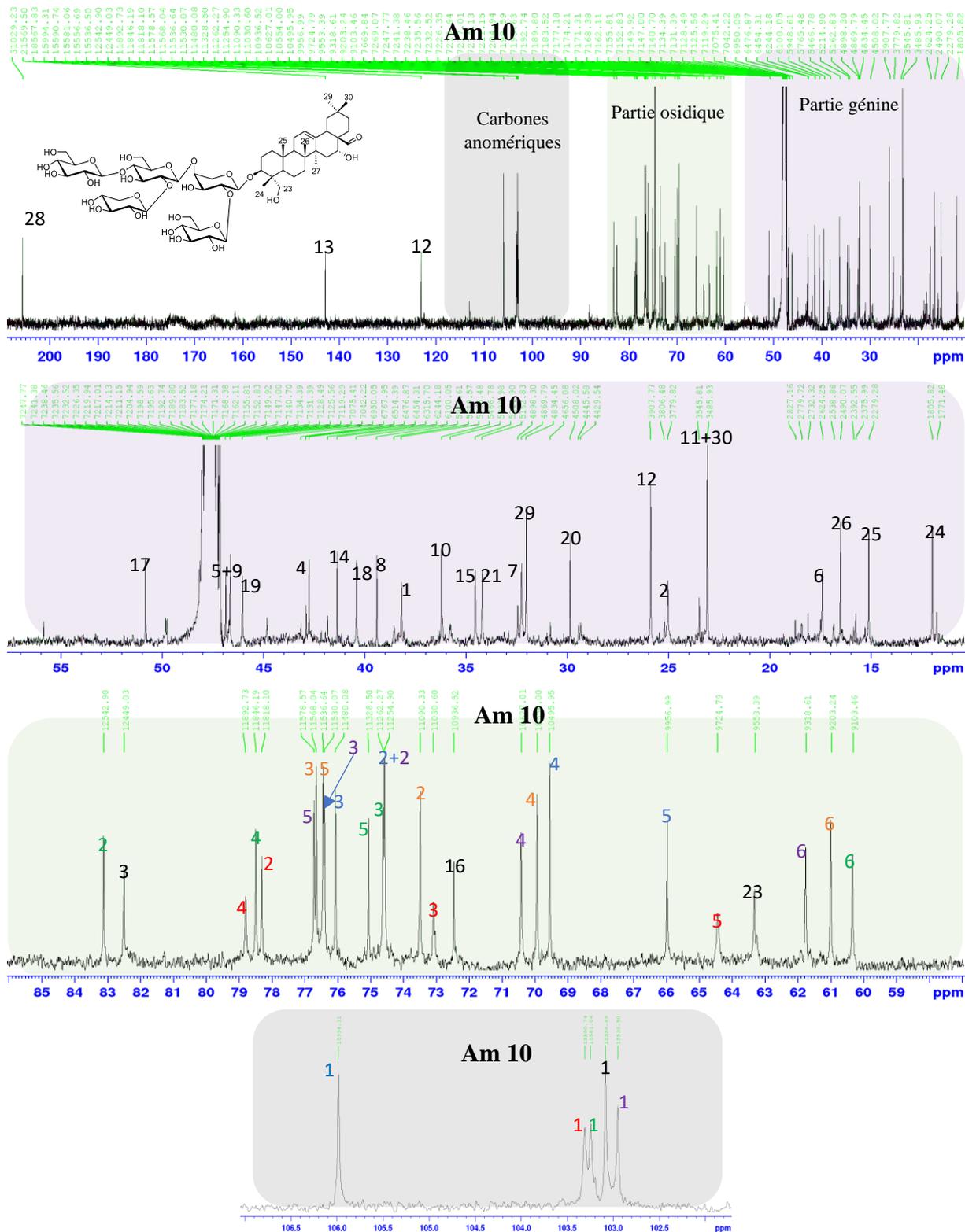


Figure 141 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am10.

- Analyse du spectre COSY de la partie génine du composé Am 10

En examinant le spectre COSY (Figures 142a, b) du composé **Am 10** nous pouvons identifier les protons non analysables sur le spectre de RMN ^1H (Figure 143) :

- le proton H-18 présente des corrélations avec les deux protons géminés H_{a,b}-19 à δ_{H} 1.14 et 2.27 ppm, ce dernier donne une faible corrélation avec le méthyle situé à δ_{H} 0.98 ppm.
- le méthyle situé à δ_{H} 0.98 ppm attribuable à celui en position 30 qui à son tour corrèle avec le méthyle résonant à δ_{H} 0.93 ppm qui est forcément celui du CH₃-29.
- les deux protons géminés H_{a,b}-2 sont localisés à δ_{H} 1.80 et 1.89 ppm corrélient avec les deux protons géminés H_{a,b}-1 résonant à δ_{H} 1.00 et 1.65 ppm.
- Au niveau du proton oléfinique H-12, nous observons une corrélation avec H-11 à δ_{H} 1.93-1.94 ppm qui donne lui-même une corrélation avec le proton H-9 situé à δ_{H} 1.69 ppm.

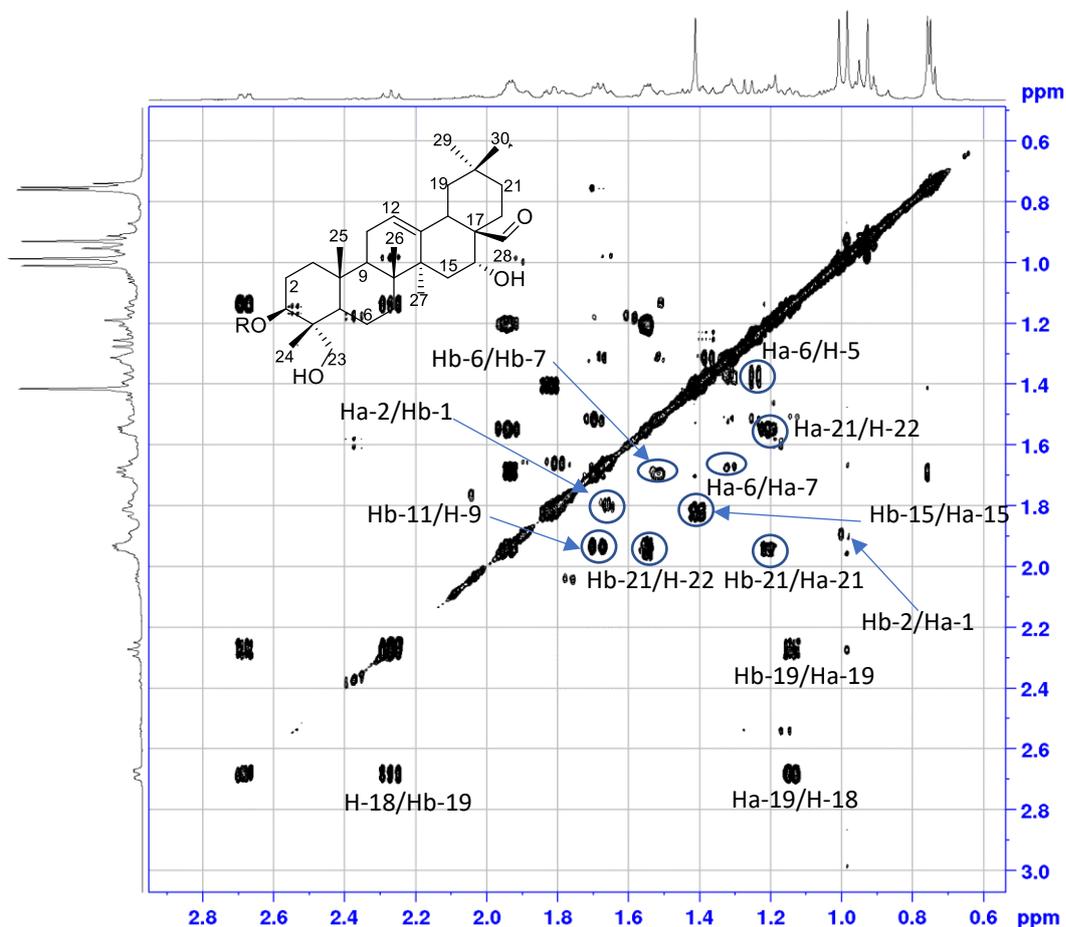


Figure 142a : Spectre COSY de la partie génine du composé **Am 10**.

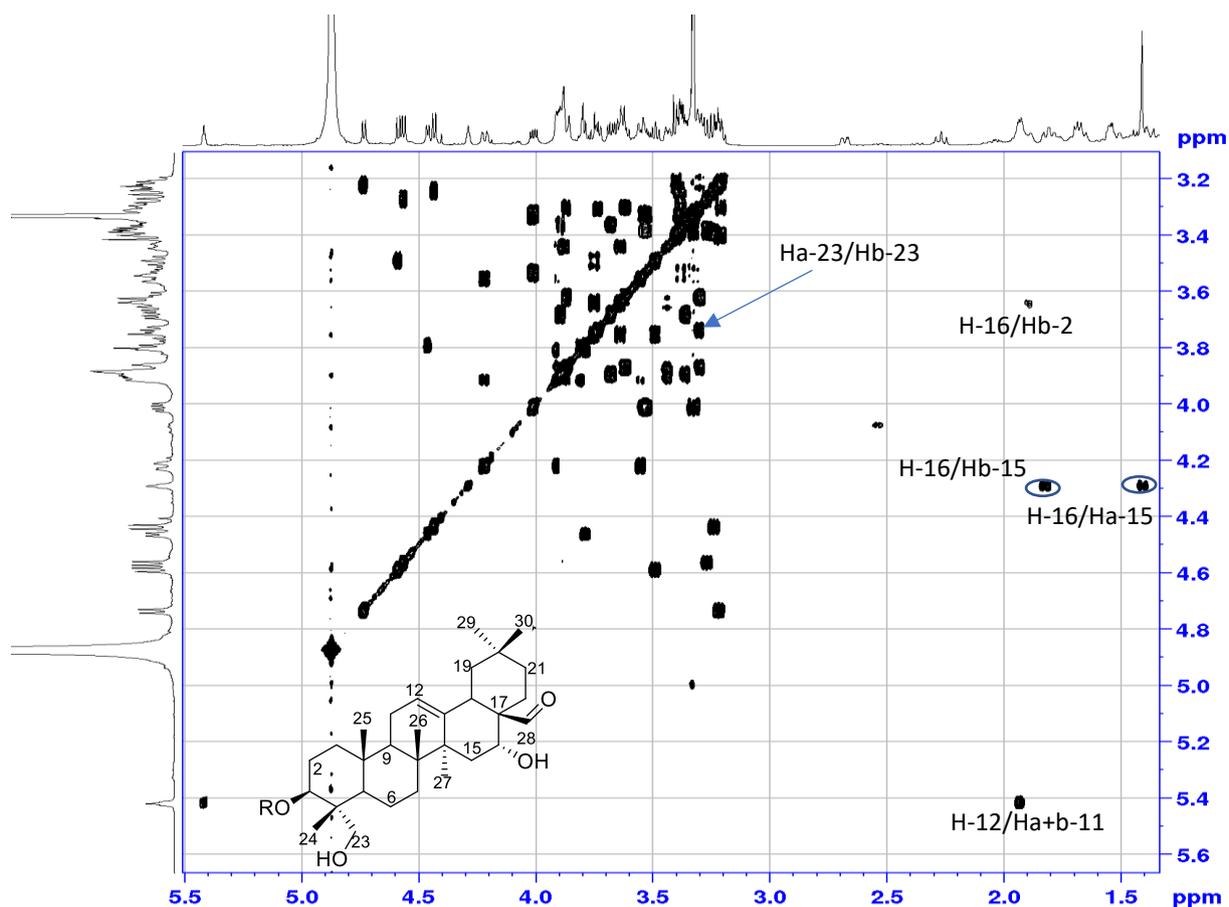


Figure 142b : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 10.

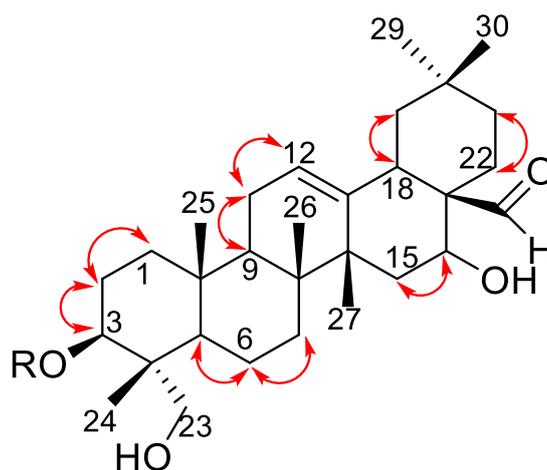


Figure 143 : Corrélations COSY de la partie génine du composé Am 10.

- Analyse du spectre HSQC du composé Am 10

A l'aide du spectre HSQC de **Am 10** (Figures 144-145), la majorité des carbones protonés sont déterminés selon les données obtenues depuis les spectres RMN 1D (Figures 140-141) et COSY (Figure 142a, b).

- Pour la génine, sont attribués sur le spectre HSQC (Figure 144) les carbones correspondants : C-1 (δ_C 38.2), C-2 (δ_C 25.0) et C-3 (δ_C 82.5), C-9 (δ_C 46.7), C-11 (δ_C 23.1), C-12 (δ_C 123.0), C-18 (δ_C 39.4) ; aussi, le carbone C-16 situé à δ_C 72.5 et C-23 à δ_C 63.3 ppm. Les méthyles CH_3 -29 et CH_3 -30 sont également localisés à δ_C 32.0 et 23.1 ppm, respectivement.

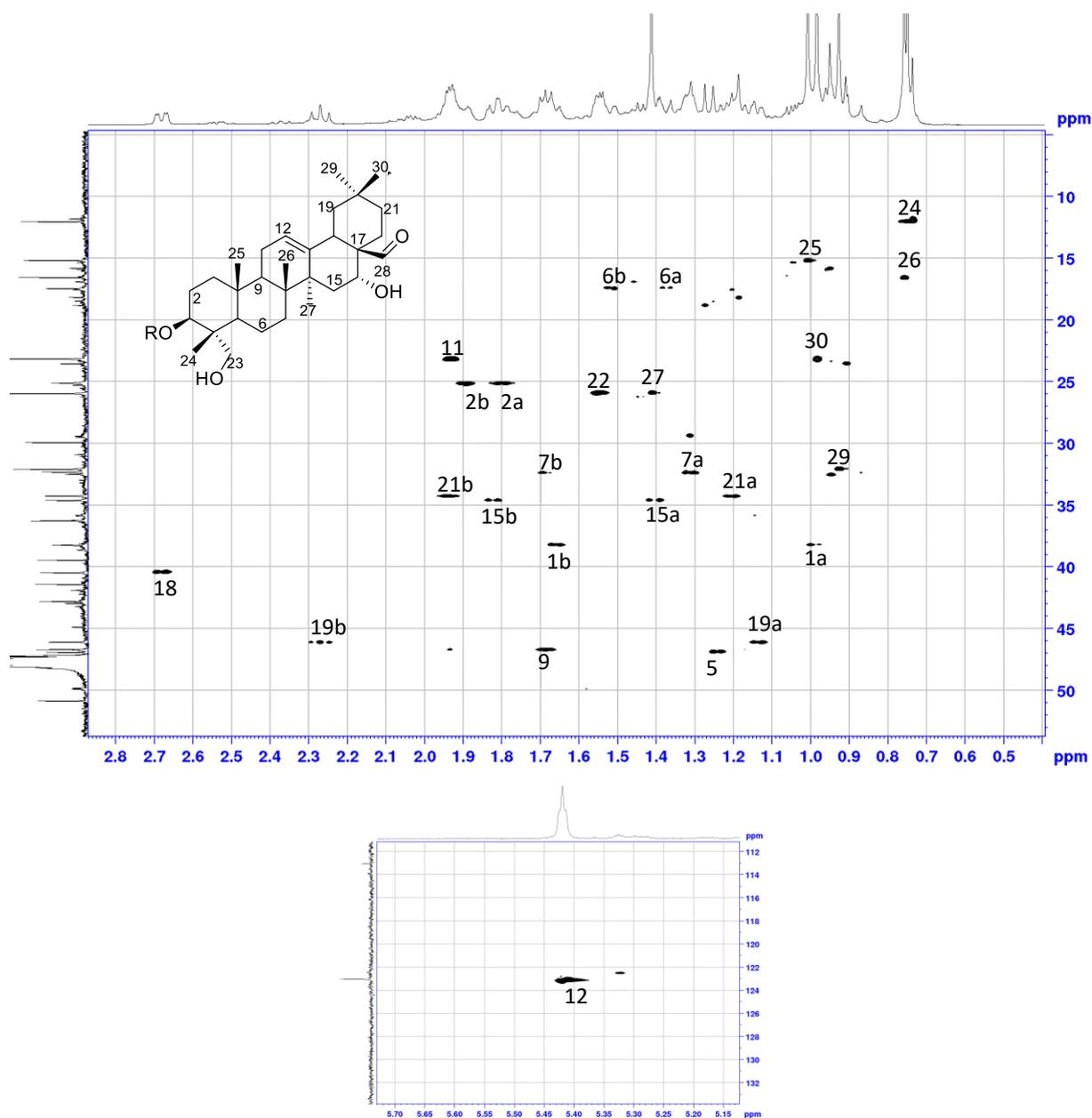


Figure 144 : Spectre HSQC de la partie génine du composé Am 10.

- Pour la partie osidique, sont attribués sur le spectre HSQC (Figure 145) les carbones correspondants aux 5 unités osidiques comme pour le composé **Am 4**.

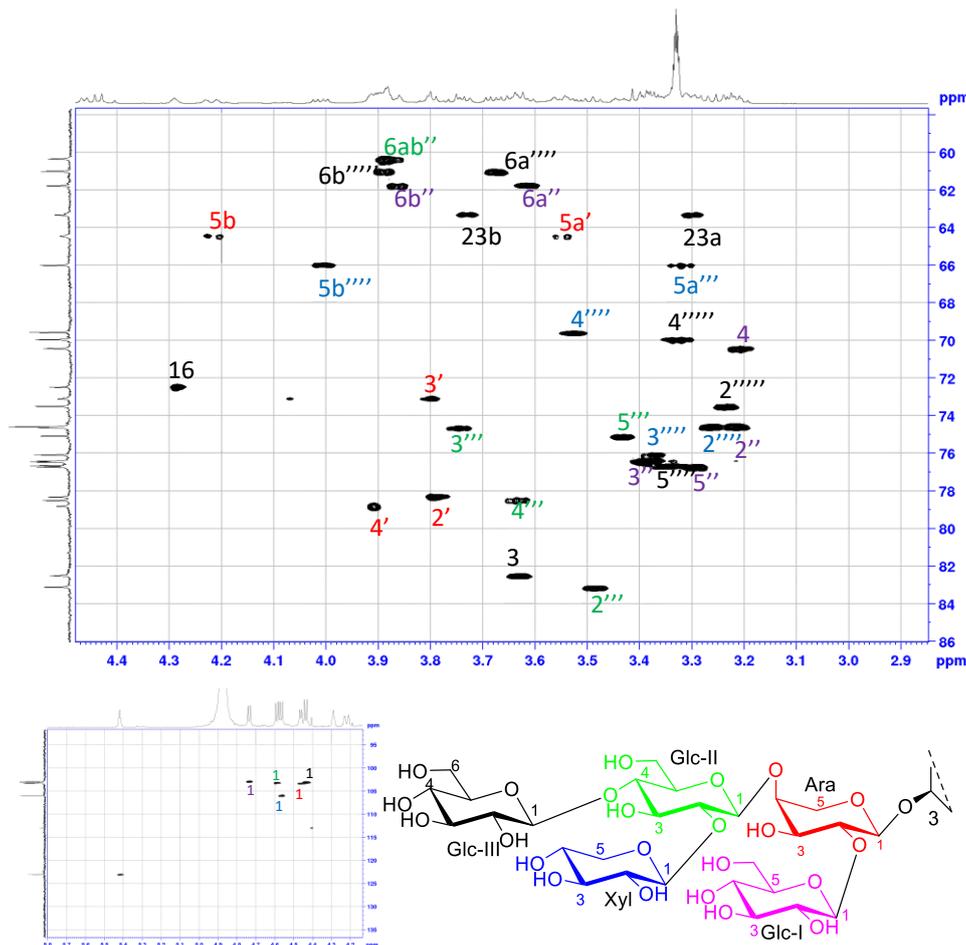


Figure 145 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **Am 10**.

- Analyse du spectre HMBC de la partie génine de **Am 10**

L'expérience HMBC (Figure 147) fournit une confirmation sur les données précédentes, permet également de compléter la structure et de corréler les carbones quaternaires avec les protons voisins.

Parmi les corrélations observées sur le spectre HMBC du composé **Am 10** (Figure 147), nous avons choisi les plus importantes pour élucider la structure finale de la génine :

- A partir du carbone C-3 à δ_C 82.5 ppm, les protons CH₃-24 sont localisés à δ_H 0.74 ppm. Les valeurs de leurs déplacements chimiques permettent de localiser l'hydroxylation en C-23 (Li et al., 2007). Le spectre HSQC (Figures 144 et 145), permet d'attribuer leurs carbones respectifs à δ_C 63.2 ppm et à δ_C 11.9 ppm (Tableau 32).

- Au niveau des protons de CH₂-23 et CH₃-24 nous observons trois corrélations identiques avec le C-3 cité précédemment, C-4 à δ_C 42.8 et C-5 à δ_C 46.9 ppm en plus de leurs corrélations mutuelles.

- Le carbone C-5 corrèle avec un autre méthyle situé à δ_H 1.00 ppm attribuable au CH₃- 25. Ce dernier corrèle avec les carbones CH₂-1et un carbone quaternaire situé à δ_C 36.2 ppm attribuable au carbone C-10.

Après attribution du proton H-5 à δ_H 1.24 ppm sur le spectre HSQC, les deux protons géminés H_{a, b}-6 sont localisés à δ_H 1.37 et 1.52 ppm, grâce aux corrélations observées avec le H-5 sur le spectre COSY, permettant également la localisation des protons géminés H_{a, b}-7 à δ_H 1.31 et 1.70 ppm. Ainsi, les deux carbones CH₂-6 (δ_C 17.4) et CH₂-7 (δ_C 32.2) sont attribués à l'aide du spectre HSQC.

- Deux autres corrélations sont également observées à partir des protons du méthyle CH₃-27 avec le carbone quaternaire oléfinique C-13 (δ_C 142.9) et le carbone situé à δ_C 34.6 ppm attribuable au carbone C-15 (.

- Le carbone C-19 présente des corrélations avec les protons des deux derniers méthyles CH₃-29 et CH₃-30 situés à δ_H 0.93 et 0.98 ppm, respectivement. Ces derniers corrèlent entre eux et avec un carbone quaternaire attribué au C-20 (δ_C 29.9) et le carbone situé à δ_C 34.2 ppm. Sur le spectre HSQC, ce dernier (δ_C 34.2) corrèle avec deux protons géminés situés à δ_H 1.20 et 1.94 ppm attribuable au CH₂-21 (Figure 146).

L'analyse du spectre COSY à partir des protons CH₂-21 permet de localiser les deux derniers protons géminés CH₂-22 à δ_H 1.55 ppm. De même, les corrélations observées sur le même spectre entre les protons en position 15 à δ_H 1.40 (H-15a) et 1.82 (H-15b) et le signal d'un proton porté par un carbone oxygéné à δ_H 4.29 ppm attribué à H-16, permet de placer le groupement hydroxyle en position 16 de la génine.

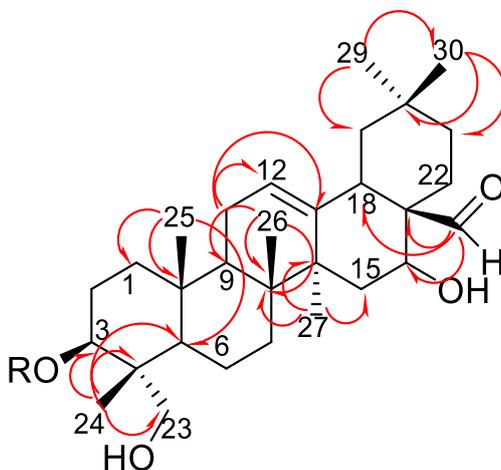


Figure 146 : Corrélations HMBC du composé **Am 10**.

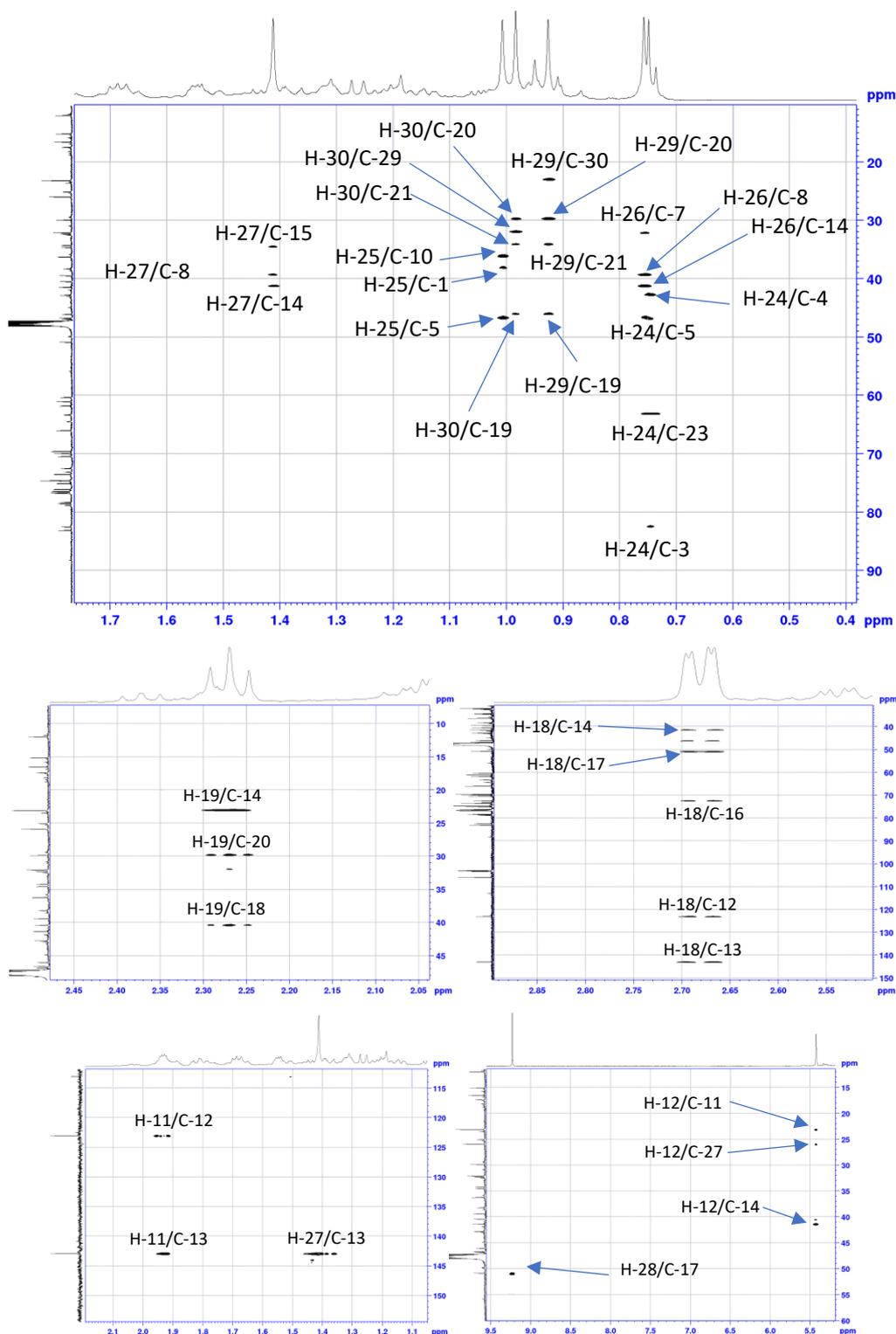


Figure 147 : Spectre HMBC de la partie génine du composé **Am 10**.

L'orientation α -axiale de OH-16 était justifiée par la valeur relativement faible de la constante de couplage vicinal $J = 3.6$ Hz de H-16eq/H-15ax et H-16eq/H-15eq. En comparaison avec celles rapportées dans la littérature, toutes ces données étaient caractéristiques pour l'hédéragénaldéhyde (Li et al., 2007).

- Analyse du spectre HMBC de la partie osidique du composé Am 10

Les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 148) de **Am 10** à partir de chaque proton anomérique permet d'identifier la séquence des unités osidiques qui est identique à celle du composé **Am 4**. Ainsi sont observés :

- La corrélation entre le proton H-1' de l'arabinose (Ara) et le carbone C-3 de l'hédéragénoaldéhyde montrant que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.
- Le proton H-1'' du glucose (Glc-I) corrèle avec le carbone C-2' de l'arabinose (Ara) lié à la génine.
- Le proton H-1''' du glucose (Glc-II) corrèle avec le carbone C-4' de l'arabinose (Ara).
- Le proton H-1'''' du xylose (Xyl) corrèle avec le carbone C-2'' du glucose (Glc-II) lié à l'arabinose.
- Le proton H-1''''' du glucose (Glc-III) corrèle avec le carbone C-4'' du glucose (Glc-II) lié à l'arabinose.

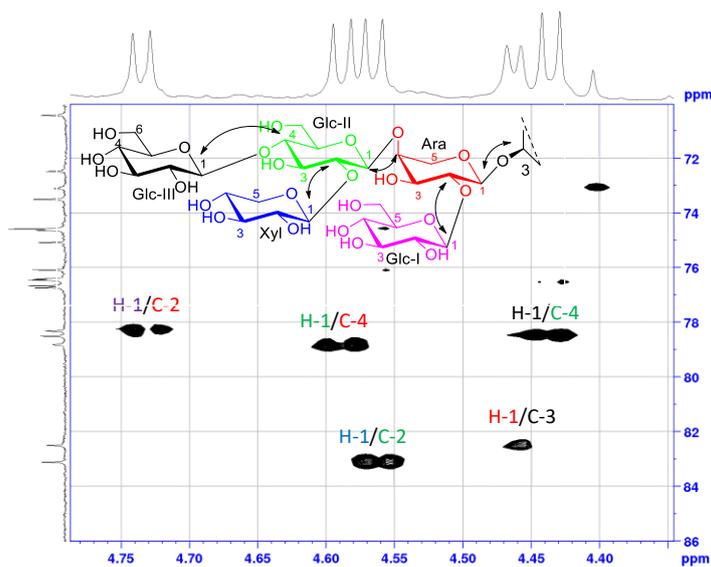


Figure 148 : Spectre HMBC de la partie osidique (protons anomériques) du composé **Am 10**.

L'ensemble des données spectroscopiques nous ont conduit à proposer pour ce composé la structure suivante :

3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-3 β ,16 α ,23 α -trihydroxyoléan-12-èn-28-al, nommé **Monelloside J**.

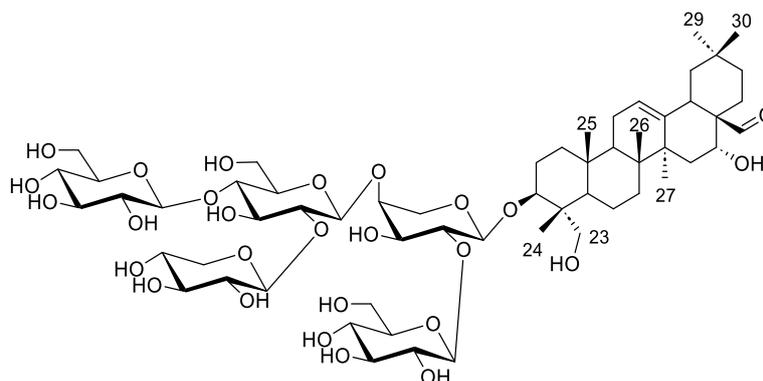


Tableau 32 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 10** dans CD_3OD .

Position	10		Position	10	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.2	1.00 m 1.65 m	Ara		
2	25.0	1.80 t (14.3) 1.89 m	1'	103.3	4.46 d (6.4)
3	82.5	3.63 m	2'	78.3	3.79 m
4	42.8	–	3'	73.1	3.80 m
5	46.9	1.24 d (11.7)	4'	78.8	3.91 m
6	17.4	1.37 m 1.52 m	5'	64.4	3.55 d (12.6) 4.21 dd (12.6, 2.6)
7	32.3	1.31 m 1.69 m	Glc I		
8	39.4	–	1''	103.0	4.73 d (7.7)
9	46.7	1.69 t (8.5)	2''	74.6	3.21 dd (9.2, 7.7)
10	36.2	–	3''	76.5	3.40 t (9.2)
11	23.1	1.93 m 1.94 m	4''	70.4	3.20 t (9.2)
12	123.0	5.42 t (3.6)	5''	76.7	3.29 m
13	142.9	–	6''	61.8	3.62 dd (12.0, 6.6) 3.87 dd (12.0, 1.6)
14	41.4	–	Glc II		
15	34.6	1.40 m 1.82 dd (14.7, 4.0)	1'''	103.2	4.59 d (7.7)
			2'''	83.1	3.42 dd (9.2, 7.7)
			3'''	74.6	3.75 t (9.2)
			4'''	78.5	3.64 t (9.5)
			5'''	75.1	3.43 m

Tableau32 (suite): Déplacements chimiques en RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 10** dans CD₃OD.

16	72.5	4.29 t (3.6)	6'''	60.3	3.87 d (12.4) 3.89 m
17	50.8	–	Glc III		
18	40.4	2.68 dd (14.5, 3.9)	1''''	103.1	4.43 d (7.9)
19	46.1	1.14 dd (13.3,4.9) 2.27 t (13.3)	2''''	73.5	3.24 t (8.2)
20	29.9	–	3''''	76.5	3.39 t (8.9)
21	34.2	1.20 m 1.94 m	4''''	69.9	3.33 m
27	25.9	1.41 s	5''''	76.7	3.36 m
28	205.6	9.23 s	5'''''	66.0	3.32 m 4.01 dd (11.3, 5.3)
29	32.0	0.93 s			
30	23.1	0.98 s			

III.1.2.8. Elucidation structurale des composés **Am 11**, **Am 12** et **Am 13**

Les spectres de masse haute résolution du composé **Am 11**, **Am 12** et **Am 13** ont été obtenus en HR-ESI-MS mode négatif.

Ils montrent un pic pseudomoléculaire à m/z : 1059.5367 [M-H]⁻ (calc 1059.5376) correspondant à la formule brute C₅₂H₈₃O₂₂, 1089.5490 [M-H]⁻ (calc 1089.5482) correspondant à la formule brute C₅₃H₈₅O₂₃ et 927.4966 [M-H]⁻ (calc 927.4953) correspondant à la formule brute C₄₇H₇₅O₂₈, respectivement.

- Analyse des spectres de RMN ¹H et ¹³C des composés **Am 11**, **Am 12** et **Am 13**

L'analyse des spectres de RMN-1D (600. 150 MHz, CD₃OD) de **Am 11**, **Am 12** et **Am 13** (Figures 149-151), montrent la présence d'un squelette triterpénique du type hédéragnéaldéhyde avec un enchaînement d'unités osidiques.

Cet enchaînement est semblable à celui de **Am 5** dans le cas de **Am 11**. En revanche, on observe pour les composés **Am 12** et **Am 13** respectivement une absence du xylose ou une absence simultanée du xylose et glucose (Glc-III) de l'enchaînement osidique du composé **Am 4** (Figure 152)

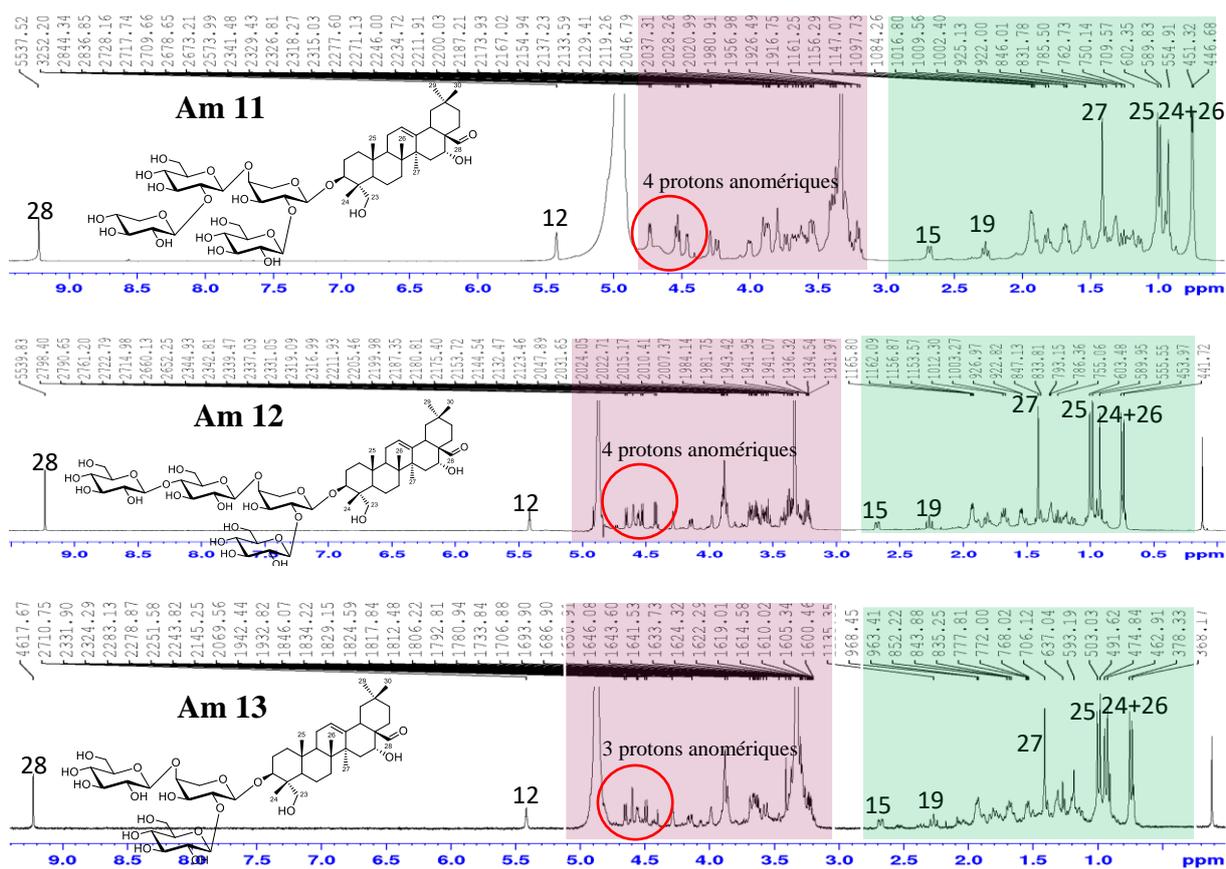


Figure 149 : Spectres RMN ^1H (CD₃OD) avec agrandissement de la zone des protons anomérique des composés Am 11, 12 et 13.

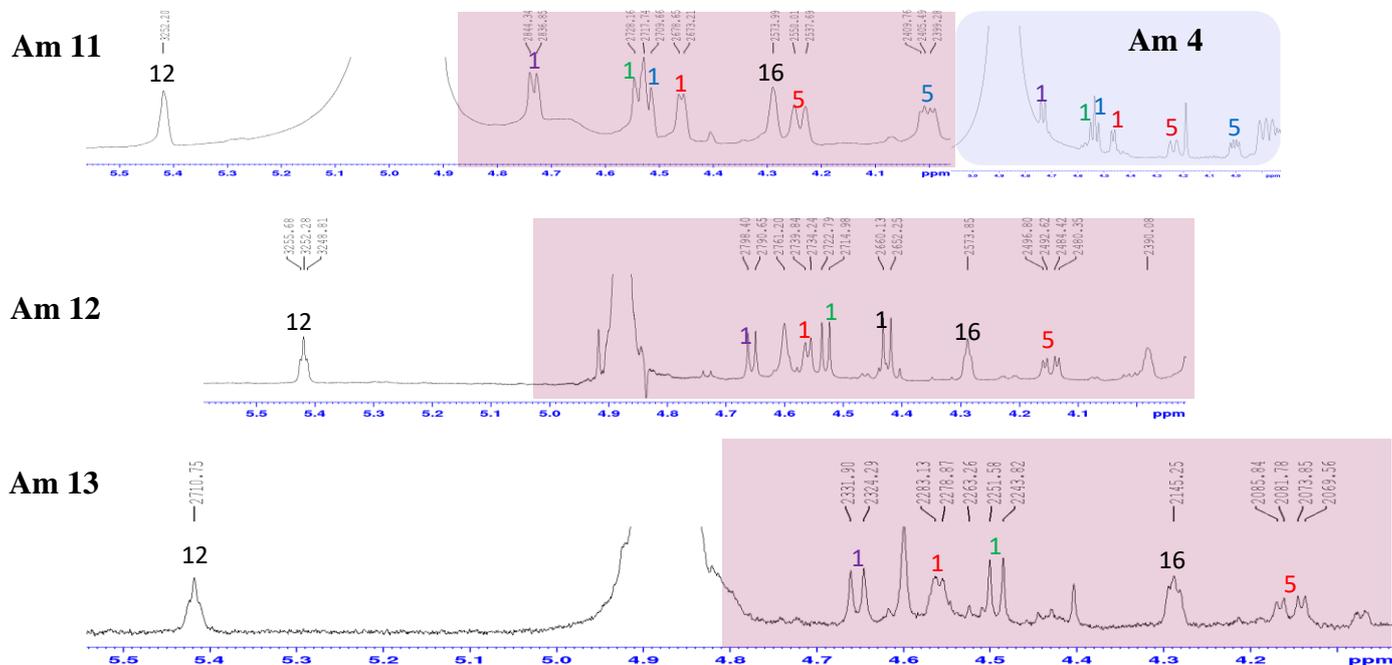


Figure 150 : Spectres RMN ^1H (600 MHz, CD₃OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques des composés Am 11, 12 et 13.

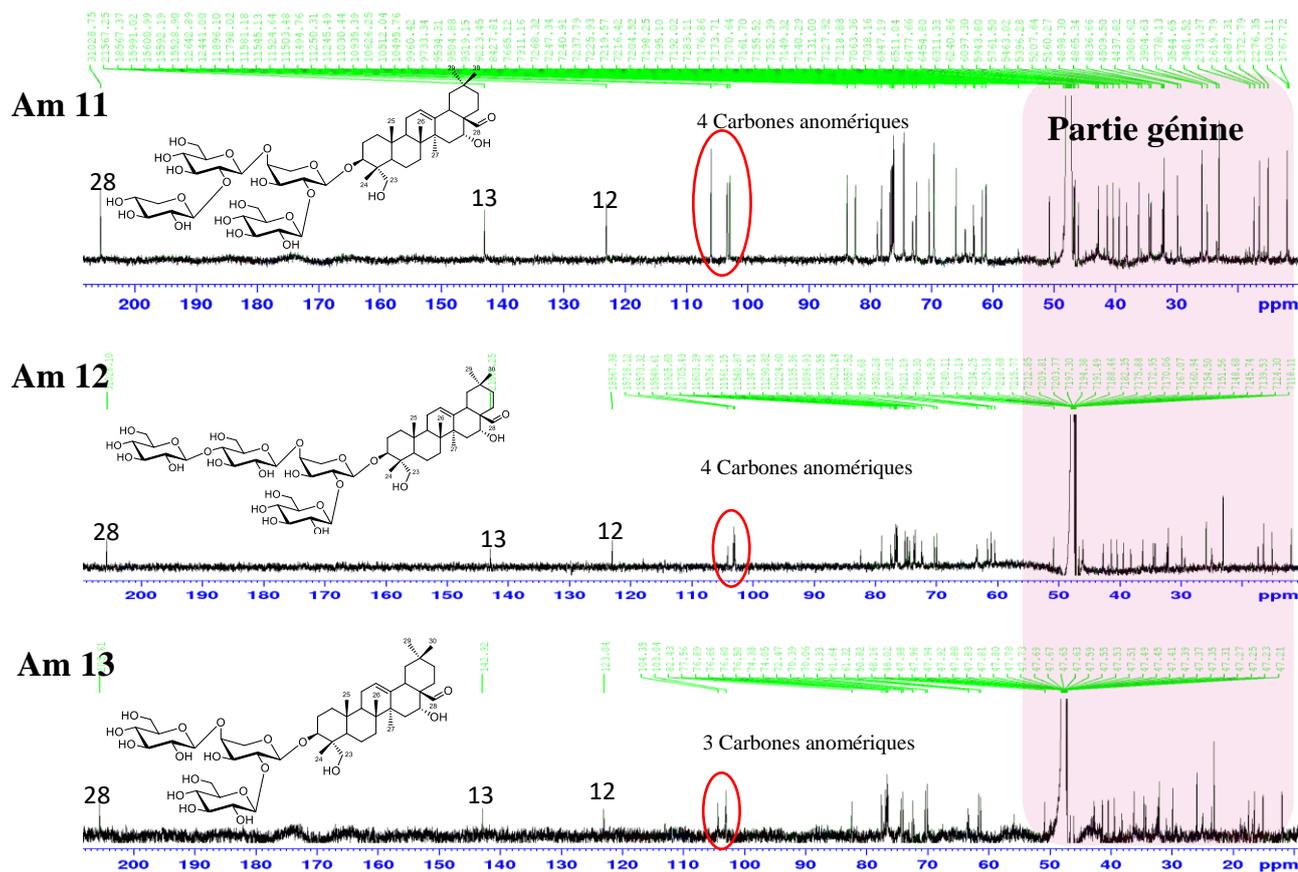


Figure 151 : Spectres RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés Am 11, 12 et 13.

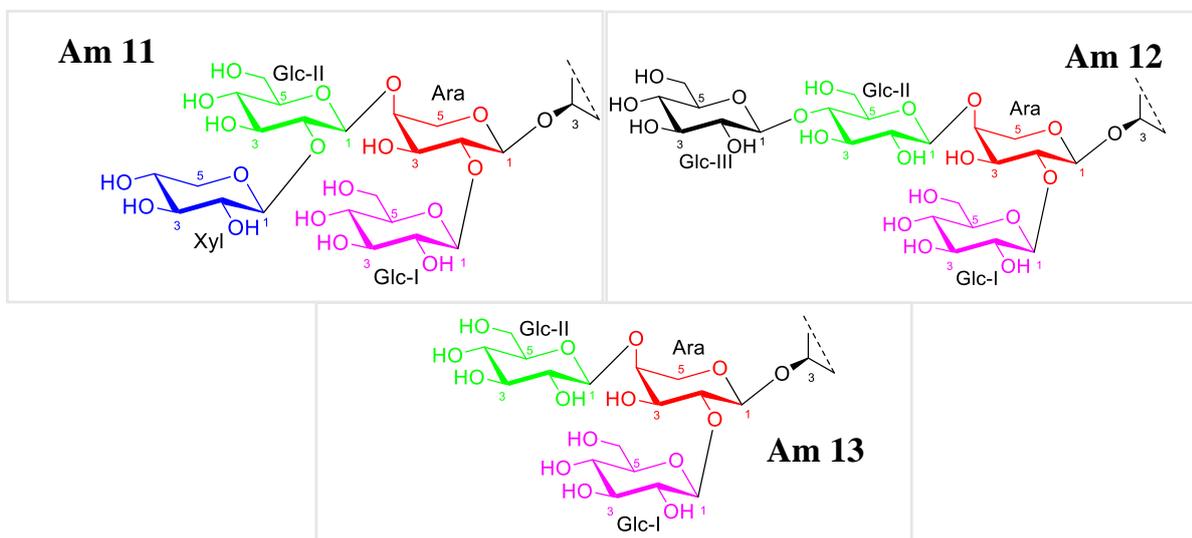


Figure 152 : Structures des chaînes osidiques des composés Am 11, 12 et 13.

- Analyse de spectres COSY des composés Am 11, Am 12 et Am 13

Les déplacements chimiques des protons de la partie la génine sur le spectre COSY (Figures 153-154) des composés Am 11, Am 12 et Am 13 sont identiques avec ceux de composé Am 10 (Figure 155).

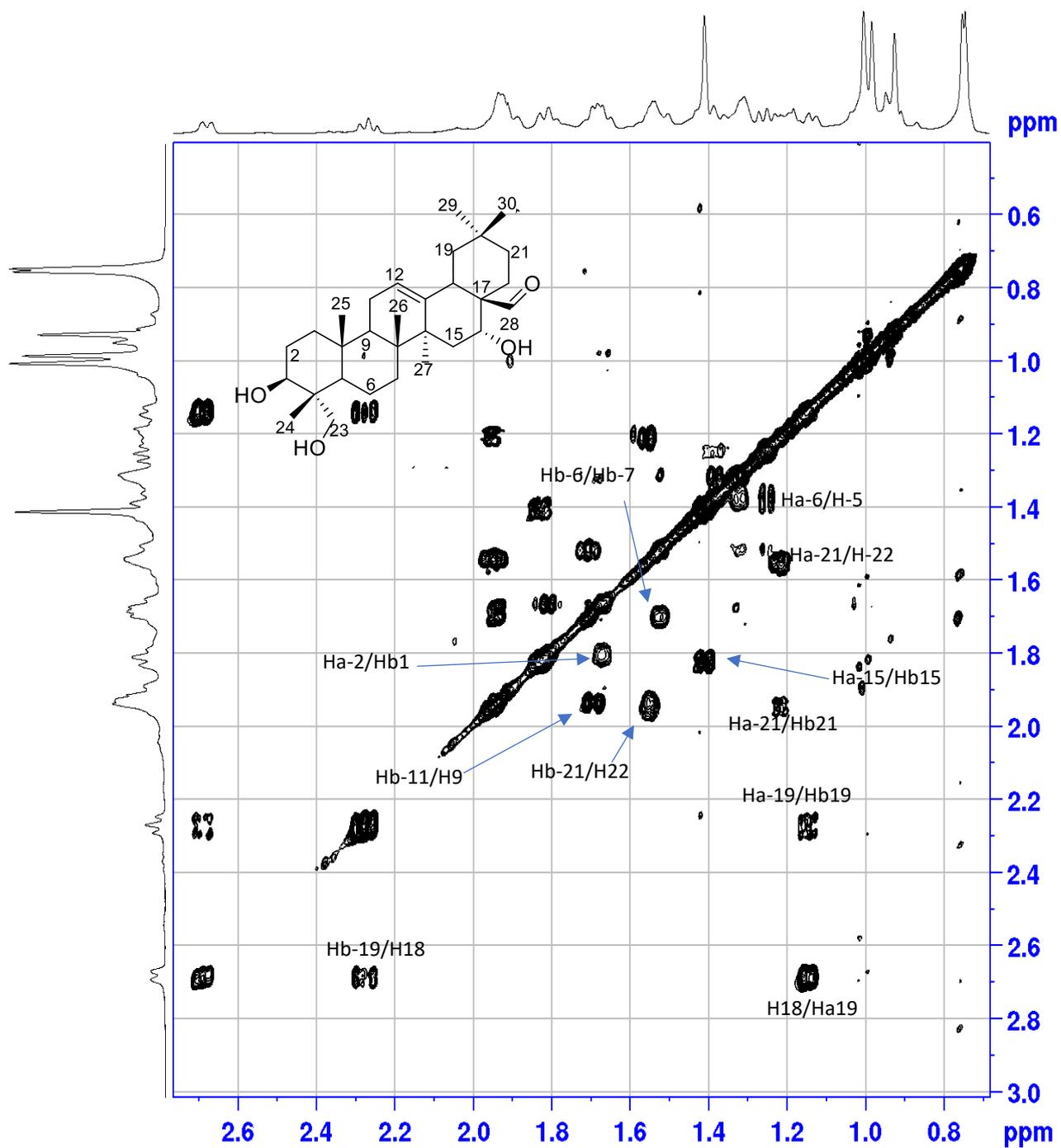


Figure 153 : Spectre COSY de la partie génine du composé Am 11.

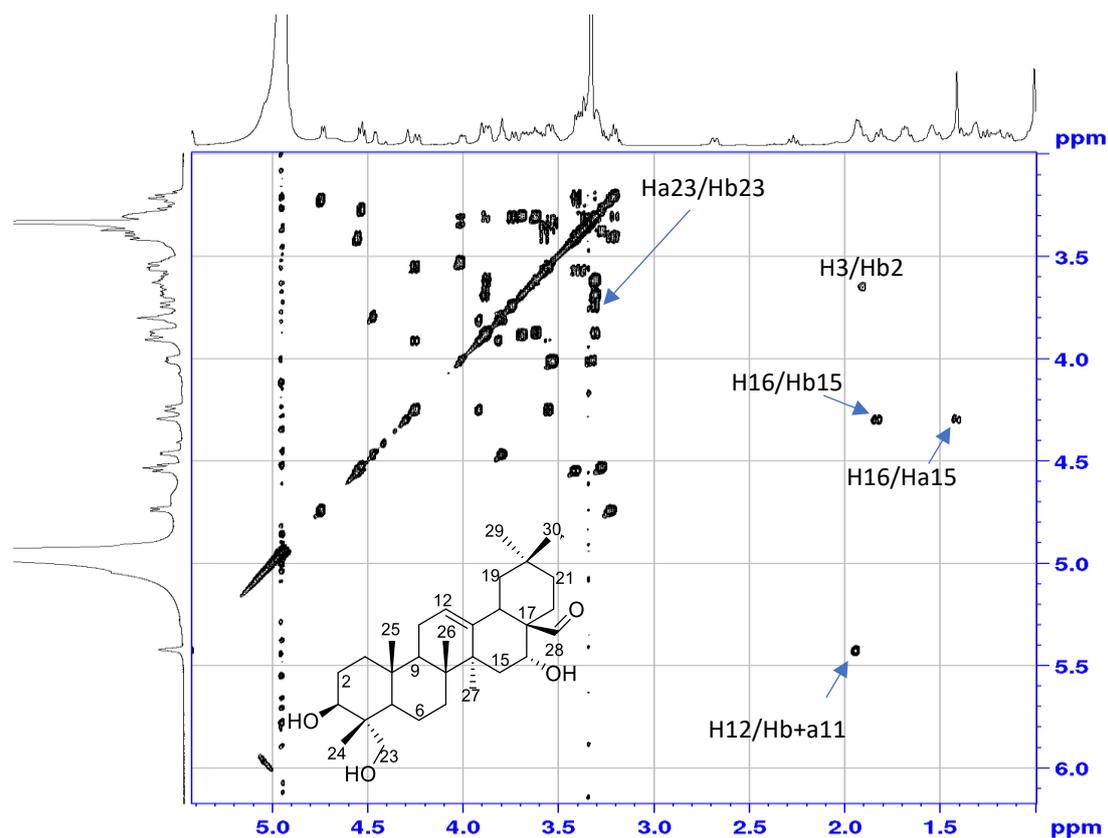


Figure 154 : Spectre COSY des protons H-23, H-3, H-16 et H-12 du composé Am 11.

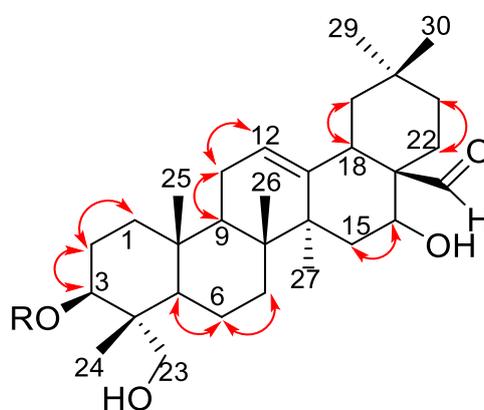


Figure 155 : Corrélations COSY du composé Am 11.

- Analyse des spectres HSQC des composés Am 11, Am 12 et Am 13

A l'aide des spectres HSQC (Figure 156), nous avons constaté que les déplacements chimiques des protons et carbones de la génine des composés Am 11, Am 12 et Am 13 sont identiques avec ceux du composé Am 10 (Tableau 32)

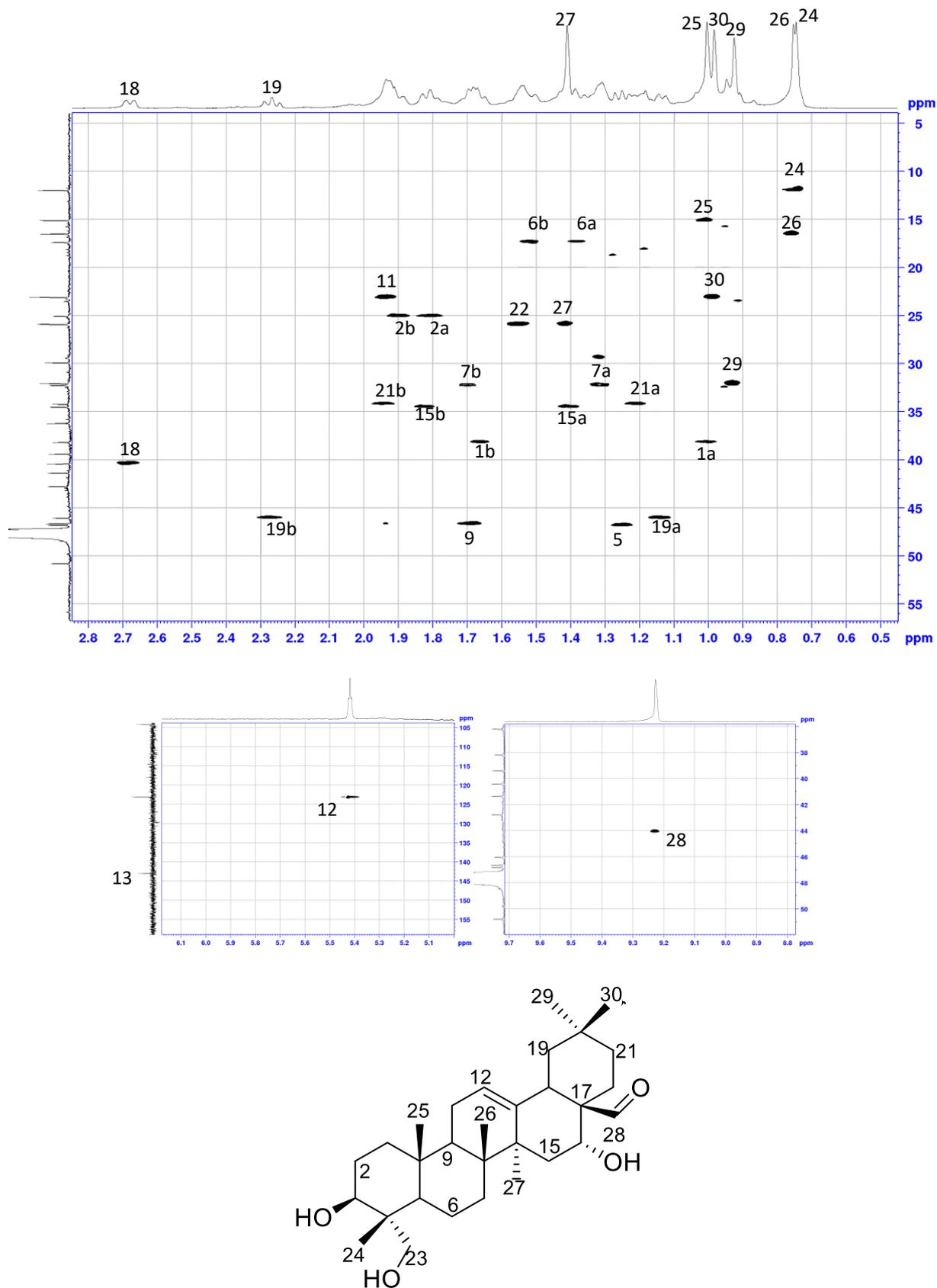


Figure 156 : Spectre HSQC de la partie gényne des composés Am 11, Am 12, Am 13

A l'aide des spectres HSQC (Figures 157-159), les carbones des sucres ont été attribués (Tableau 33-35) et confirment que l'enchaînement de **Am 11** est semblable à celui de **Am 5** et que l'on observe l'absence du xylose dans **Am 12** et une absence simultanée du xylose et glucose (Glc-III) dans **Am 13** (Figure 152).

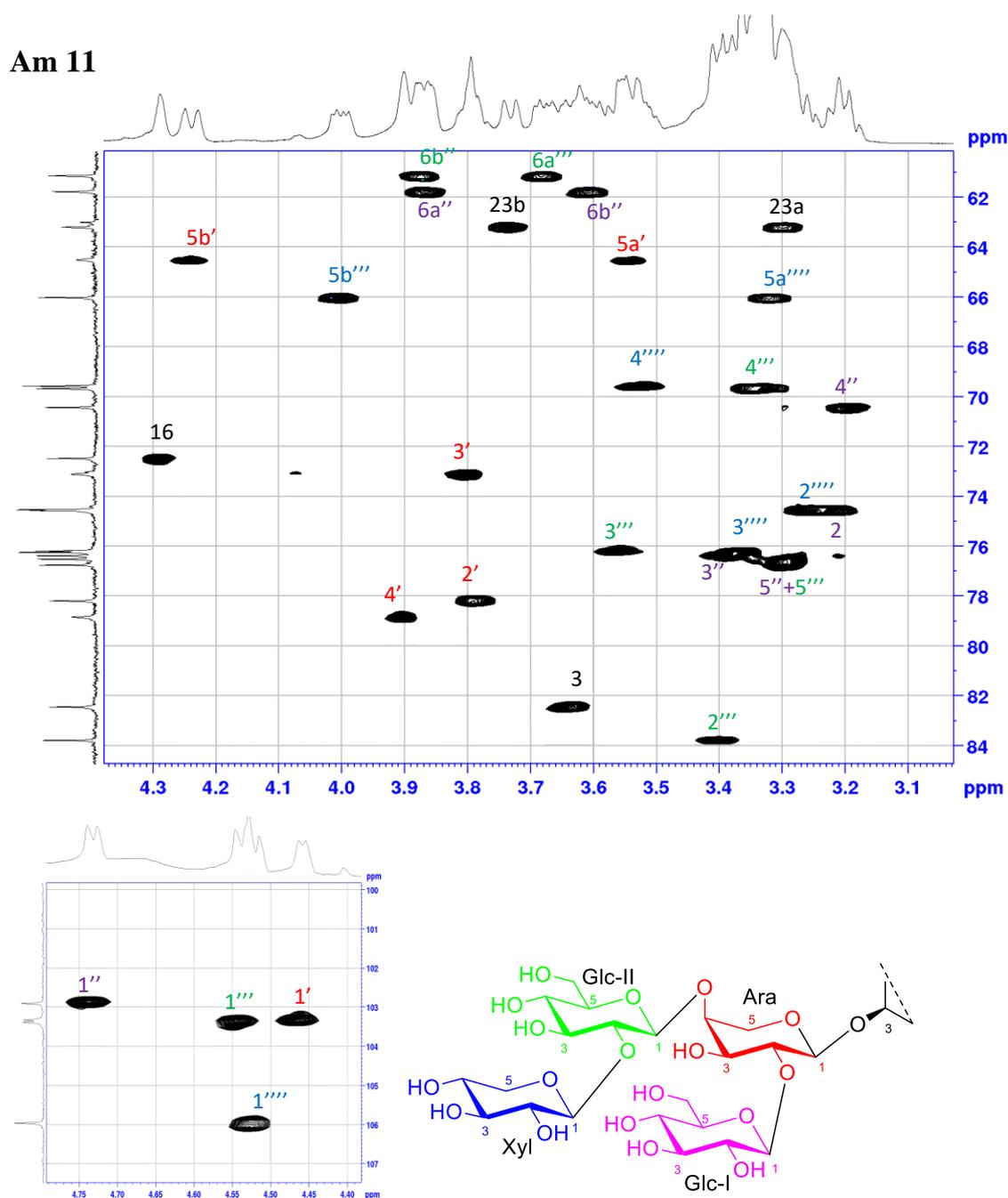


Figure 157 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **Am 11**.

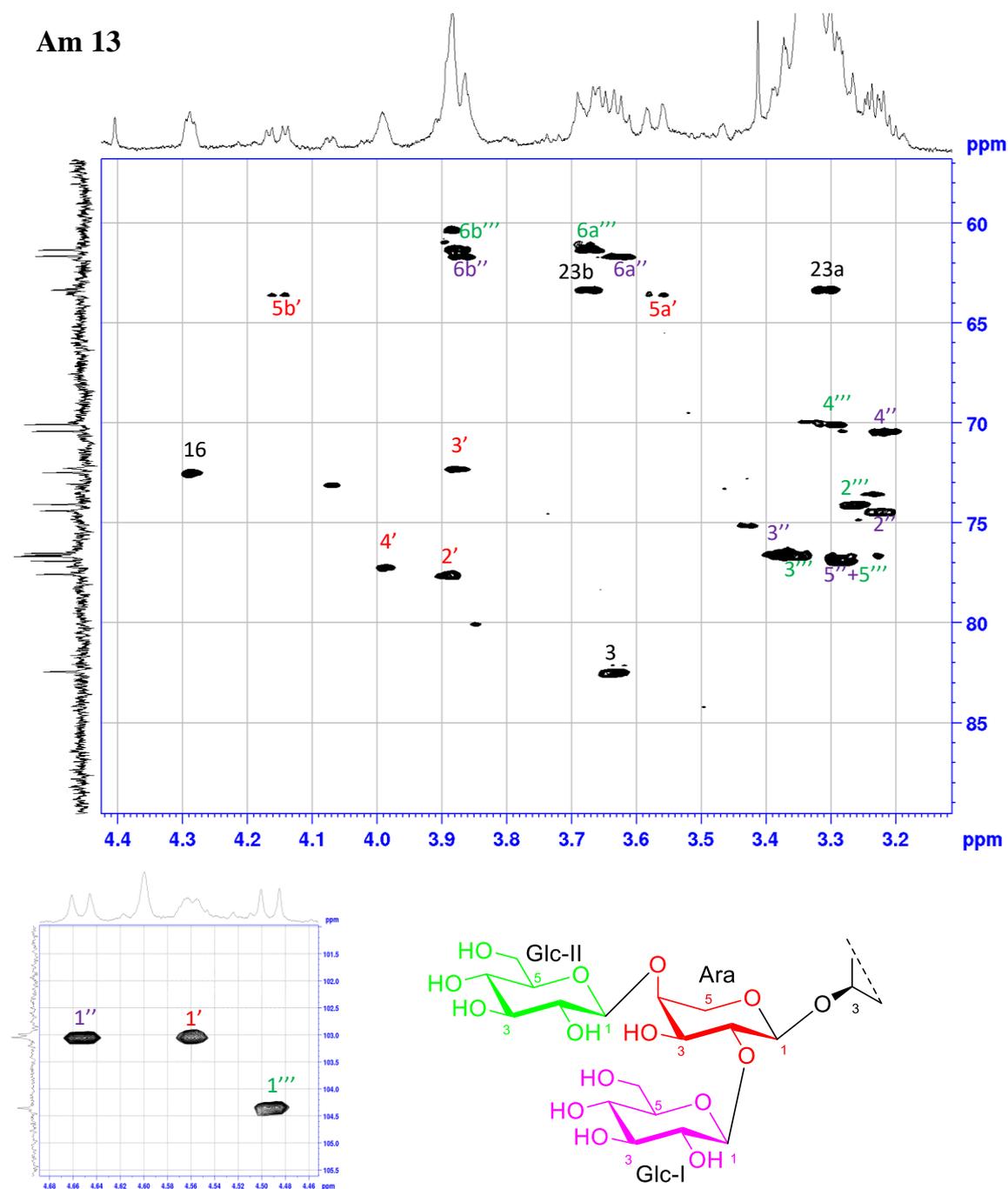


Figure 159 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **Am 13**.

- Analyse des spectres HMBC des composés Am 11, Am 12 et Am 13

Les déplacements chimiques des protons de la partie la génine sur le spectre HMBC (Figure 160) des composés **Am 11**, **Am 12** et **Am 13** sont identiques avec ceux de composé **Am 10**.

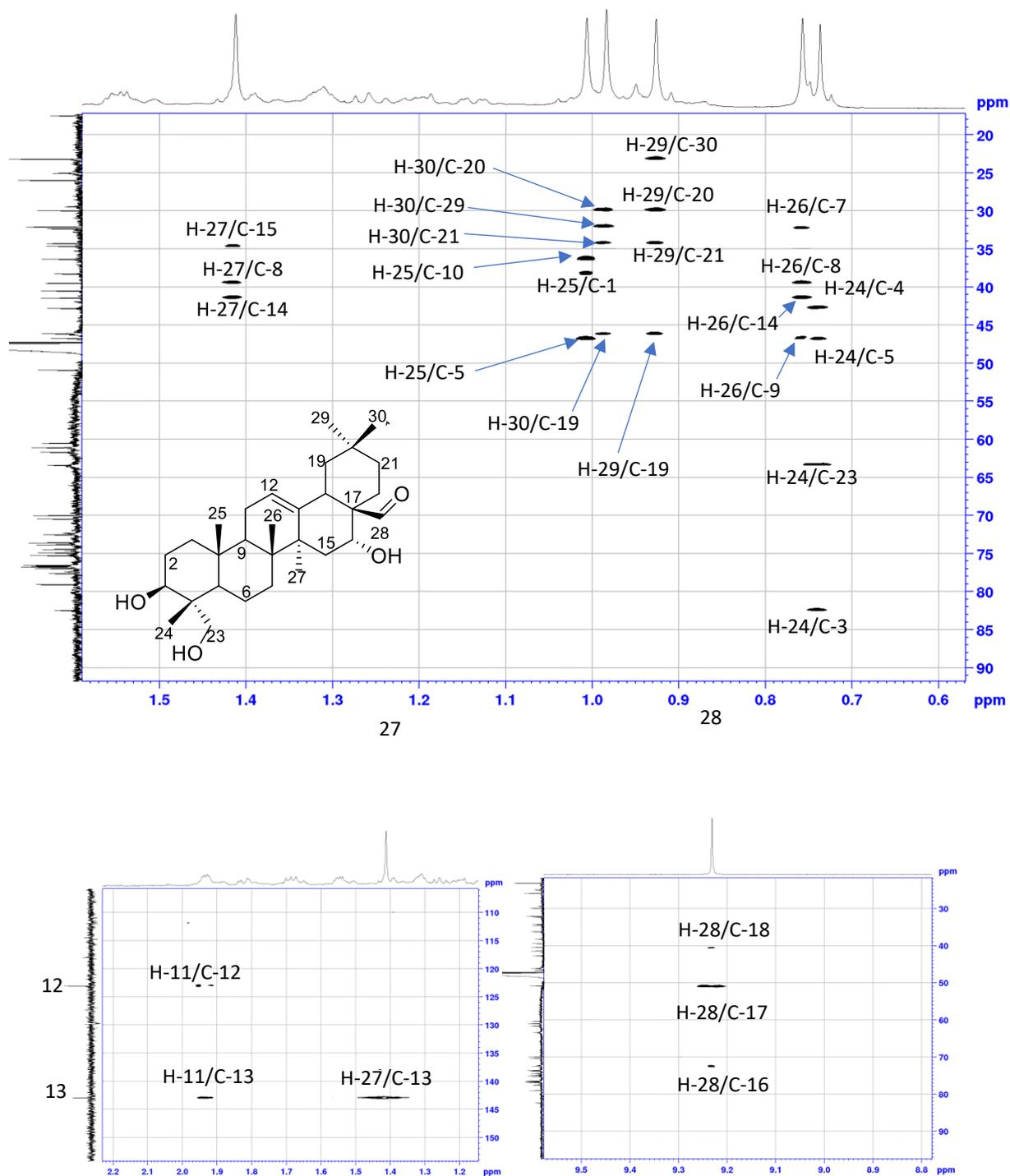


Figure 160 : Spectre HMBC de la partie g n ne du composé Am 11.

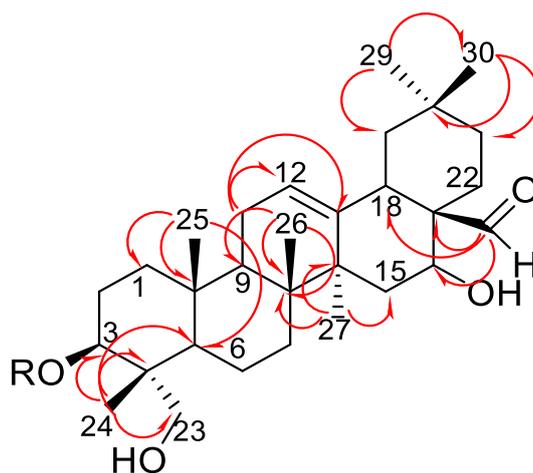


Figure 161 : Corrélations HMBC du composé **Am 11**.

- Analyse du spectre HMBC de la partie osidique des composés Am 11, Am 12 et Am 13

Le composé Am 11

- La corrélation entre le proton H-1' de l'arabinose (Ara) et le carbone C-3 de l'hédéragénaldéhyde montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.
- Le proton H-1'' du glucose (Glc-I) corréle avec le carbone C-2' de l'arabinose (Ara) lié à la génine.
- Le proton H-1''' du glucose (Glc-II) corréle avec le carbone C-4' de l'arabinose (Ara).
- Le proton H-1'''' du xylose (Xyl) corréle avec le carbone C-2'' du glucose (Glc-II).
- Le proton H-1''''' du glucose (Glc-III) corréle avec le carbone C-4'' du glucose (Glc-II).

Le composé Am 12

- La corrélation entre le proton H-1' de l'arabinose (Ara) et le carbone C-3 de l'hédéragénaldéhyde montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.
- Le proton H-1'' du glucose (Glc-I) corréle avec le carbone C-2' de l'arabinose (Ara).
- Le proton H-1''' du glucose (Glc-II) corréle avec le carbone C-4' de l'arabinose (Ara).
- Le proton H-1'''' du glucose (Glc-III) corréle avec le carbone C-4'' du glucose (Glc-II).

Le composé Am 13

- La corrélation entre le proton H-1' de l'arabinose (Ara) et le carbone C-3 de l'hédéragénaldéhyde montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 3 de la génine.
- Le proton H-1'' du glucose (Glc-I) corréle avec le carbone C-2' de l'arabinose (Ara).
- Le proton H-1''' du glucose (Glc-II) corréle avec le carbone C-4' de l'arabinose (Ara) (Figure 162).

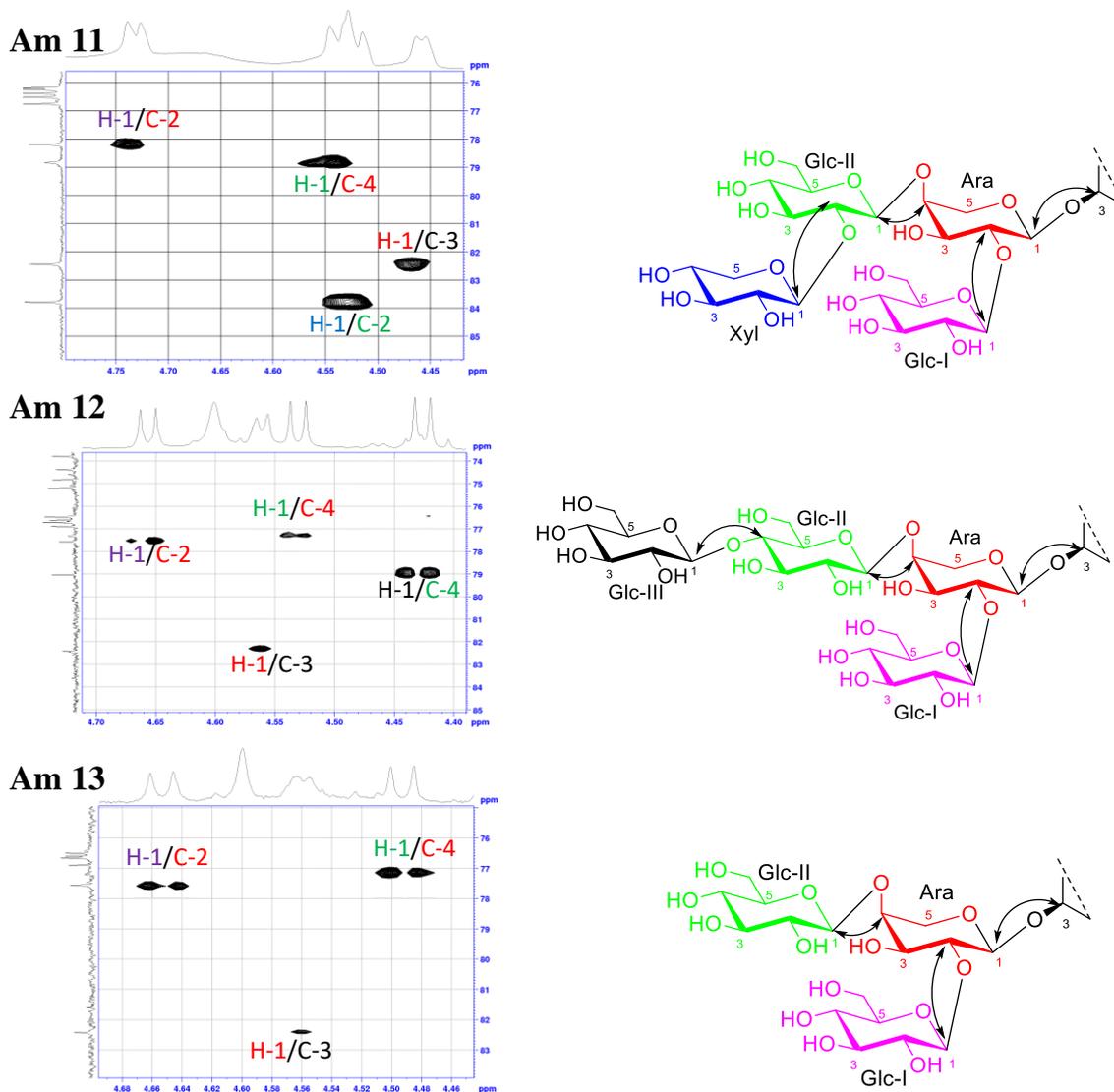


Figure 162 : Spectres HMBC de la partie osidique (protons anomériques) des composés **Am 11, 12 et 13.**

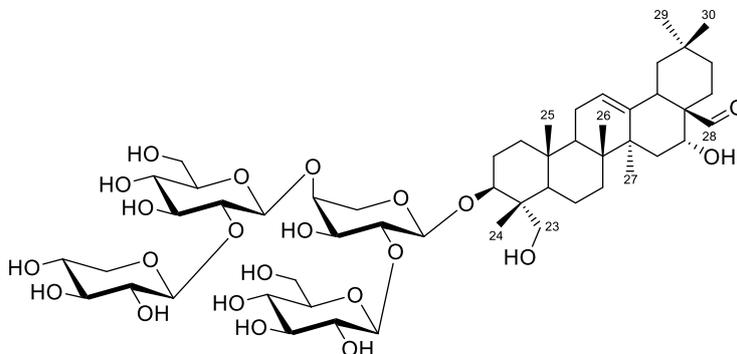
L'ensemble des données spectroscopiques nous ont conduit à proposer pour ces composés les structures suivantes :

Am 11 : 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-3 β ,16 α ,23 α -trihydroxyoléan -12- \grave{e} n-28-al, nommée **Monelloside K.**

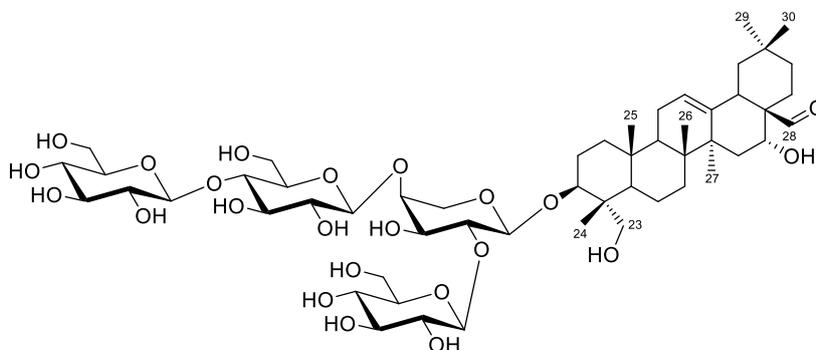
Am 12 : 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-3 β ,16 α ,23 α -trihydroxyoléan -12- \grave{e} n-28-al, nommée **Monelloside L.**

Am 13 : 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-3 β ,16 α ,23 α -trihydroxyléan-12-èn-28-al, nommée **Monelloside M**.

Am 11



Am 12



Am 13

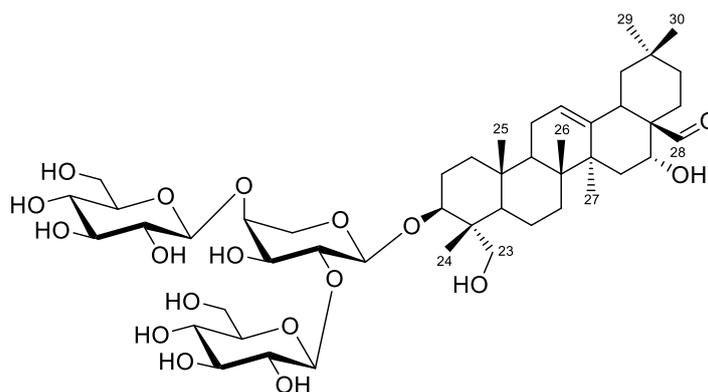


Tableau 33: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de la partie génine du saponoside **Am 11** dans CD_3OD .

Position	11		Position	11	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.2	1.00 m	Ara		
		1.66 m	1'	103.3	4.46 d (5.1)
2	25.0	1.80 t (12.9) 1.89 m	2'	78.2	3.79 m
3	82.4	3.64 dd (11.7, 4.3)	3'	73.1	3.80 m
4	42.7	–	4'	78.8	3.90 m
5	46.8	1.24 d (11.7)	5'	64.5	3.55 m 4.24 dd (12.8, 3.3)
6	17.4	1.38 m 1.52 m	Glc I		
			1''	102.9	4.73 d (7.6)
7	32.2	1.31 m 1.70 m	2''	74.5	3.21 dd (8.9, 7.6)
			3''	76.5	3.39 t (8.9)
8	39.4	–	4''	70.4	3.19 t (9.5)
9	46.6	1.69 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.2	–	6''	61.8	3.60 dd (12.0, 4.9) 3.87 dd (12.0, 4.6)
11	23.1	1.93 m 1.94 m	Glc II		
12	123.0	5.42 brs	1'''	103.4	4.54 d (7.8)
13	142.9	–	2'''	83.8	3.40 m
14	41.4	–	3'''	76.2	3.56 t (9.2)
15	34.5	1.40 m 1.82 d (12.9)	4'''	69.6	3.34 m
			5'''	76.5	3.29 m
16	72.4	4.29 brs	6'''	61.1	3.68 dd (11.7, 5.2) 3.88 m
17	50.8	–	Glc III		
18	40.4	–	1''''		
19	46.0	1.13 d (13.8)	2''''		
		2.27 t (13.8)			
20	29.9	–	3''''		
21	34.2	1.21 m	4''''		
		1.94 m			
22	25.9	1.55 m	5''''		
23	63.2	3.30 m	Xyl		
		3.73 d (11.4)			
24	11.9	0.74 s	1'''''	105,9	4.52 d (8.2)
25	15.1	1.00 s	2'''''	74.5	3.26 dd (9.5, 8.2))
26	16.5	0.75 s	3'''''	76.2	3.37 td (9.5))
27	25.9	1.41 s	4'''''	69.5	3.52 m
28	205.6	9.23 s	5'''''	66.0	3.32 m
					4.00 dd (11.4, 4.9)
29	32.0	0.92 s			
30	23.1	0.98 s			

Tableau 34: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de la partie génine du saponoside **Am 12** dans CD_3OD .

Position	12		Position	12	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.2	1.00 m 1.66 dt (13.3, 3.6)	Ara		
2	24.9	1.79 m 1.89 m	1'	102.9	4.56 d (6.2)
3	82.4	3.63 m	2'	77.5	3.89 t (7.7)
4	42.7	–	3'	72.2	3.87 dd (8.2, 2.3)
5	46.8	1.24 d (11.7)	4'	77.3	3.98 dd (6.6, 2.7)
6	17.3	1.37 m 1.51 m	5'	63.4	3.57 dd (12.4, 1.9) 4.15 dd (12.4, 4.3)
7	32.2	1.31 m 1.69 m	Glc I		
8	39.4	–	1''	103.1	4.73 d (7.6)
9	46.6	1.69 m	2''	74.4	3.21 dd (8.9, 7.6)
10	36.2	–	3''	76.6	3.39 t (8.9)
11	23.1	1.93 m 1.94 m	4''	70.4	3.19 t (9.5)
12	123.0	5.42 brs	5''	76.8	3.29 m
13	142.9	–	6''	61.6	3.60 dd (12.0, 4.9) 3.87 dd (12.0, 4.6)
14	41.4	–	Glc II		
15	34.5	1.40 dd (14.2, 2.7) 1.82 dd (14.2, 3.6)	1'''	104.1	4.53 d (7.8)
16	72.4	4.29 t (3.5)	2'''	73.8	3.33 m
17	50.9	–	3'''	74.8	3.51 t (8.9)
18	40.4	2.68 dd (14.2, 4.4)	4'''	79.0	3.59 t (8.9)
19	46.0	1.14 dd (12.7, 3.6) 2.27 t (14.2)	5'''	75.1	3.42 m
20	29.9	–	6'''	60.4	3.87 dm (12.5) 3.91 d (12.5, 2.6)
21	34.2	1.20 m 1.93 m	Glc III		
22	25.9	1.54 m	1''''	103.2	4.42 d (7.8)
23	63.2	3.30 m 3.70 d (11.4)	2''''	73.5	3.23 dd (8.6, 7.7)
24	11.9	0.73 s	3''''	76.4	3.38 t (8.6)
25	15.1	1.00 s	4''''	69.9	3.32 m
26	16.5	0.76 s	5''''	76.6	3.35 m
27	25.9	1.41 s	6''''	61.0	3.68 dd (11.8, 5.5) 3.89 dd (11.8, 2.3)
28	205.6	9.23 s	Xyl		
29	32.0	0.92 s	1'''''		
30	23.1	0.98 s	2'''''		
			3'''''		
			4'''''		
			5'''''		

Tableau 35: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de la partie génine du saponoside **Am 13** dans CD_3OD .

Position	13		Position	13	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.2	1.00 m	Ara		
		1.66 dt (13.3, 3.6)	1'	102.9	4.55 d (5.3)
2	24.9	1.79 m 1.89 m	2'	77.6	3.89 m
3	82.4	3.63 m	3'	72.3	3.87 m
4	42.7	–	4'	77.2	3.99 m
5	46.8	1.24 d (11.7)	5'	63.5	3.57 dd (12.4, 1.9) 4.15 dd (12.4, 4.2)
6	17.3	1.37 m	Glc I		
		1.51 m	1''	103.0	4.65 d (7.7)
7	32.2	1.31 m	2''	74.4	3.22 dd (9.1, 7.7)
		1.69 m	3''	76.6	3.37 t (9.0)
8	39.4	–	4''	70.4	3.22 t (9.5)
9	46.6	1.69 m	5''	76.9	3.29 m
10	36.2	–	6''	61.6	3.63 dd (11.8, 6.6) 3.87 dd (11.8, 2.4)
11	23.1	1.93 m 1.94 m	Glc II		
12	123.0	5.42 brs	1'''	104.3	4.53 d (7.7)
13	142.9	–	2'''	74.0	3.27 dd (8.9, 7.7)
14	41.4	–	3'''	76.5	3.35 m
15	34.5	1.40 dd (14.2, 2.7)	4'''	70.1	3.29 m
		1.82 dd (14.2, 3.6)	5'''	76.7	3.29 m
16	72.4	4.29 t (3.5)	6'''	61.3	3.67 d (11.8, 5.5) 3.88 d (11.8, 2.4)
17	50.9	–	Glc III		
18	40.4	2.68 dd (14.2, 4.4)	1''''		
19	46.0	1.14 dd (12.7, 3.6)	2''''		
		2.27 t (14.2)	3''''		
20	29.9	–	4''''		
21	34.2	1.20 m	5''''		
		1.93 m	6''''		
22	25.9	1.54 m	Xyl		
23	63.2	3.30 m 3.70 d (11.4)	1'''''		
24	11.9	0.73 s	2'''''		
25	15.1	1.00 s	3'''''		
26	16.5	0.76 s	4'''''		
27	25.9	1.41 s	5'''''		
28	205.6	9.23 s			
29	32.0	0.92 s			
30	23.1	0.98 s			

III.1.3. Détermination structurale des composés Am 14-Am 23

L'identification structurale des composés **Am 14-Am 23** a été réalisée par analyse des spectres RMN 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, et HMBC) et par la comparaison des déplacements chimiques de leurs protons et carbones à ceux de la littérature. Ces derniers, révèlent que ces saponosides sont des structures connues.

III.1.3.1. Détermination structurale des composés Am 14-Am 15

Les signaux des parties osidiques dans les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C du composé **Am 14** (Figures 163-164) et **Am 15** (Figures 168-169) sont similaires à ceux des composés **Am 1** et **Am 2**, respectivement. Alors que ceux des parties aglycone sont identiques et ne diffèrent de ceux de **Am 1** et **Am 2** que par l'absence des signaux de l'hydroxyle en C-22 cette différence a été mise en évidence par les spectres COSY, HSQC et HMBC.

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé Am 14

Sur les spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **Am 14** (Figures 163-164), nous retrouvons tous les signaux du composé **Am 1**, exception d'une disparition d'un signal correspondant au carbone oxygéné C-22 à δ_{C} 77.2 ppm du composé **Am 1**.

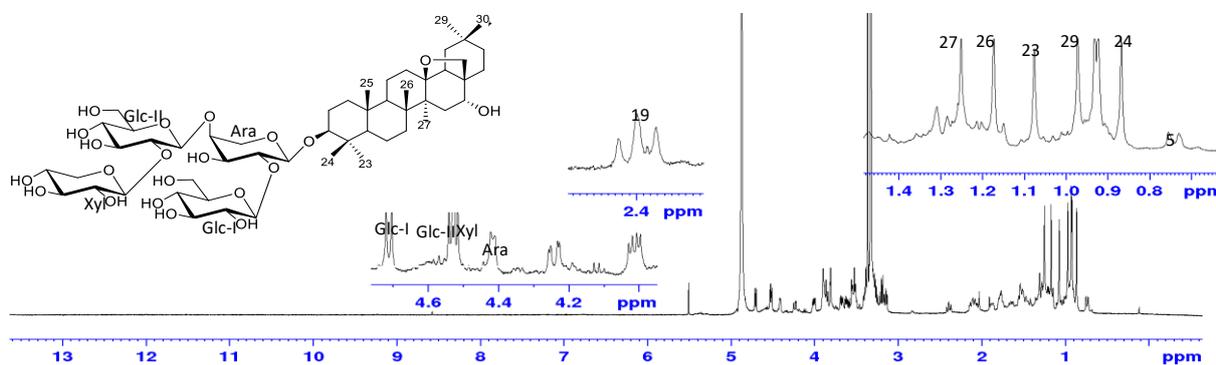


Figure 163 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomérique du composé **Am 14**

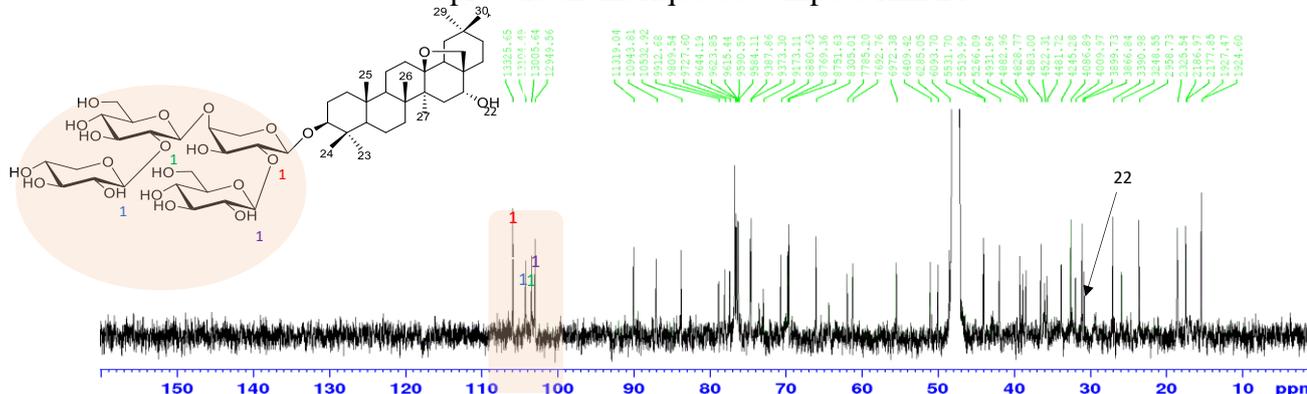


Figure 164 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 14**

- Analyse de spectre COSY du composé Am 14

Le spectre COSY (Figure 165) du composé **Am14** montre les mêmes corrélations que le composé **Am1** avec une seule différence qui est l'absence de la corrélation entre le proton hydroxyle H-22 et les protons géminés H-21. Ce qui confirme l'absence du groupement hydroxyle à cette position dans **Am14**.

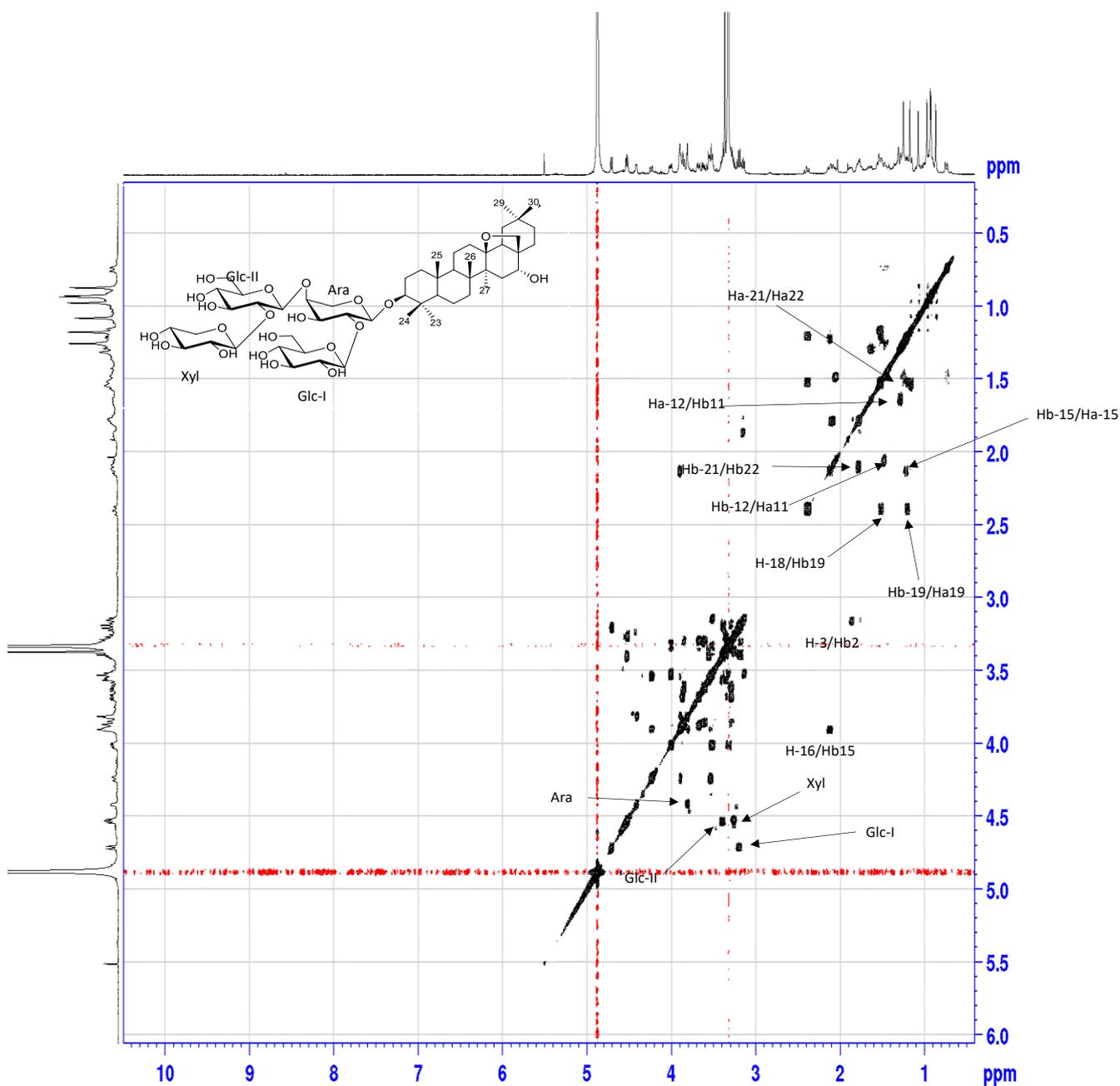
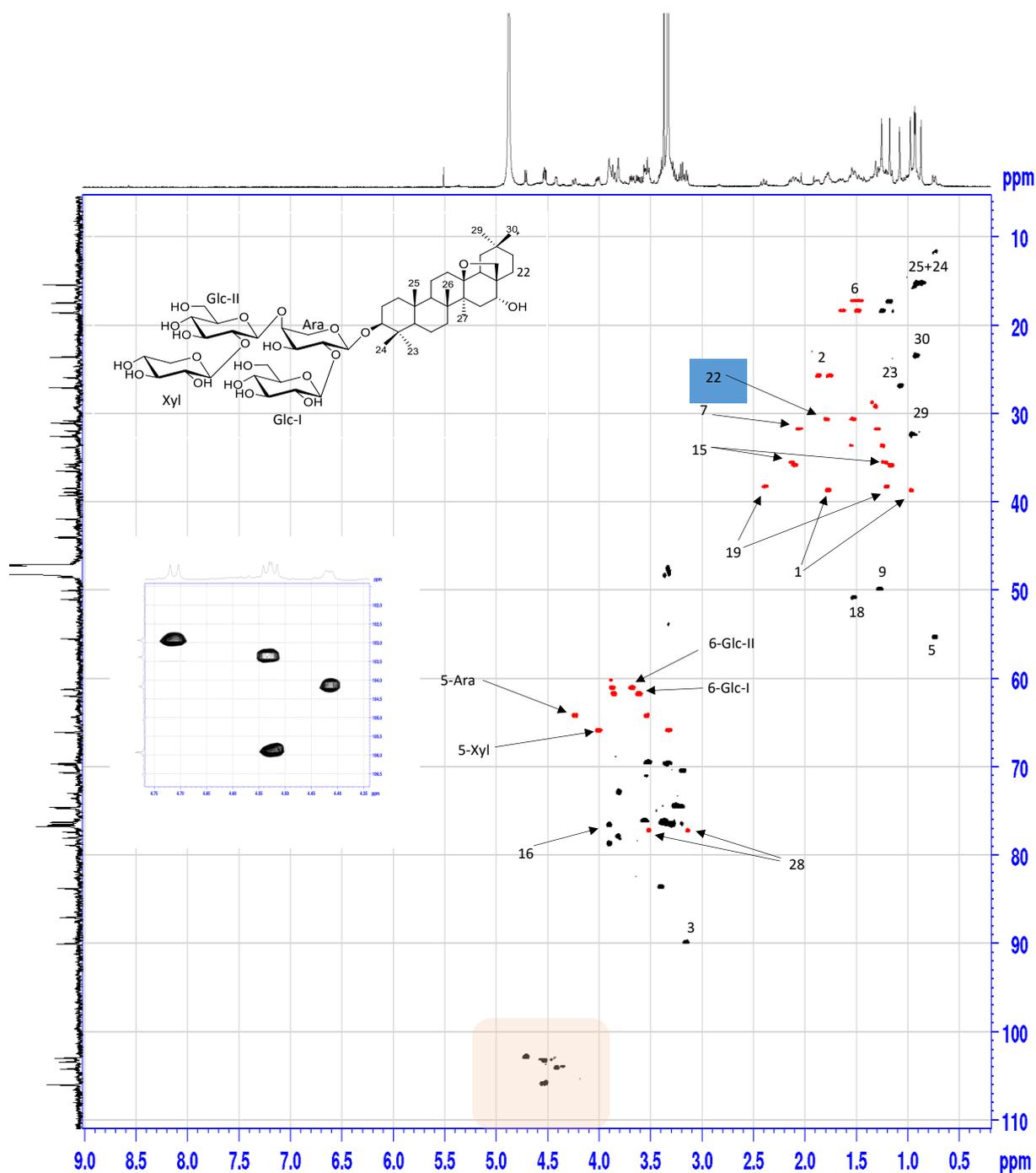


Figure 165 : Spectre de COSY du composé Am 14

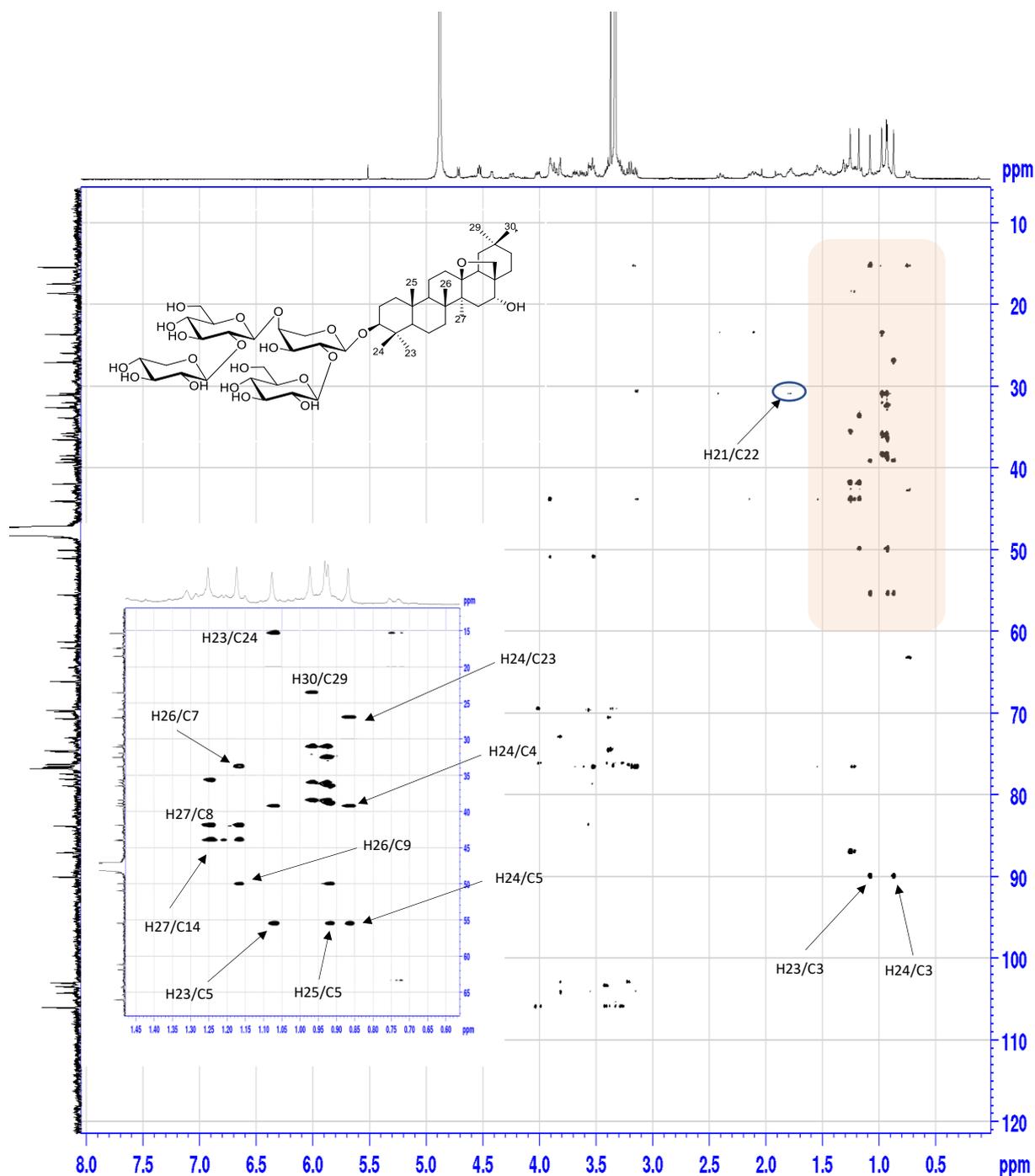
- Analyse de spectre HSQC du composé Am 14

Le spectre HSQC (Figure 166) montre les corrélations entre les carbones et leurs protons du composé **Am14** et qui présente les mêmes corrélations du composé **Am1**, sauf l'absence du groupement hydroxyle sur le carbone 22.

**Figure 166 : Spectre HSQC du composé Am 14**

- Analyse de spectre HMBC du composé Am 14

L'analyse du spectre HMBC (Figure 167) du produit **Am14** montre les mêmes corrélations que celui du composé **Am1**, sauf certaines indiquent l'absence d'un groupement hydroxyle en position C-22 telle que la corrélation observée entre le proton 21 et C-22 (δ_C 30.8 ppm) ce qui explique son déplacement chimique blindé.

**Figure 167 : Spectre HMBC du composé Am 14**

L'analyse conjointe des spectres de RMN 1D et 2D permet l'attribution complète des carbones et protons de ce composé (Tableau 36). Le composé **Am14** est identifié à 3-O-β-D-xylopyranosyl- (1→2)-β-D- glucopyranosyl -(1→4)-[β-D- glucopyranosyl- (1→2)-]α-L arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3β,16α-diol (**deglucocyclamine**), isolé précédemment de l'exsudat de la plante *Cylamen repandum* (Dall'Acqua et al., 2010).

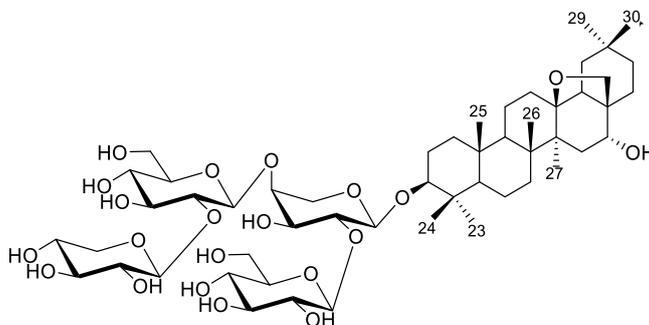


Tableau 36: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 14** dans CD_3OD .

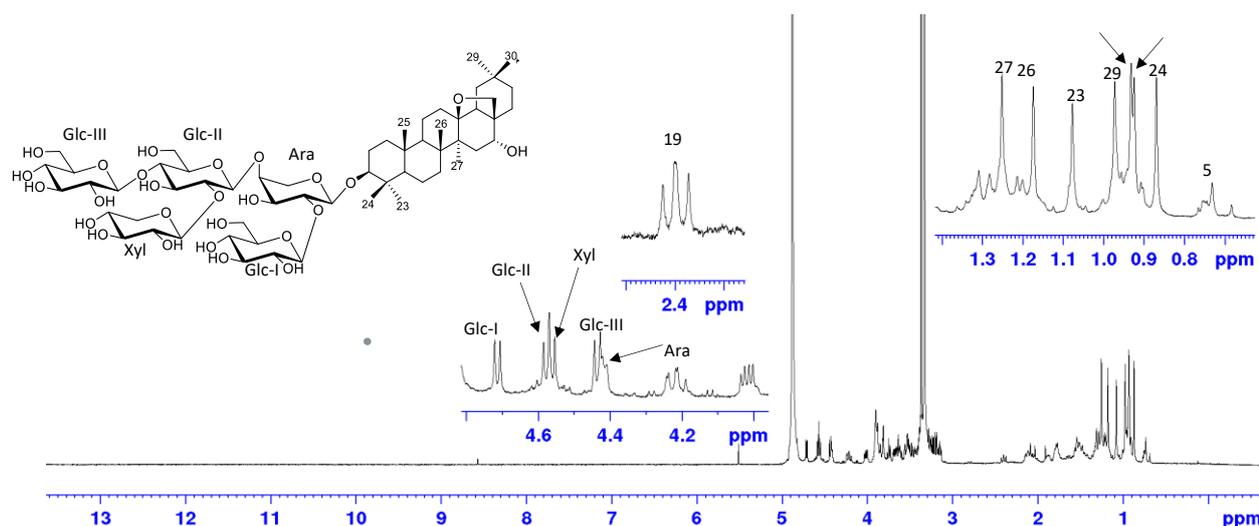
Position	14		Position	14	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.8	0.93 m 1.70 m	Ara		
2	25.6	1.66 t (12.5) 1.80 m	1'	104.2	4.41 d (6.6)
3	90.2	3.18 m	2'	78.0	3.82 m
4	40.1	–	3'	72.9	3.81 m
5	55.4	0.69 m	4'	78.8	3.90 m
6	16.8	1.63 m 1.36 m	5'	64.4	3.55 dd (12.5, 3.8) 4.23 dd (12.5, 2.8)
7	32.2	1.57 m 1.29 m	Glc I		
8	41.8	–	1''	103.0	4.71 d (7.7)
9	49.9	1.27 m	2''	74.6	3.21 dd (8.9, 7.7)
10	36.2	–	3''	76.4	3.39 t (9.3)
11	18.5	1.55 m 1.51 m	4''	70.6	3.19 t (9.2)
12	31.9	2.10 m 1.30 m	5''	76.7	3.29 m
13	87.0	–	6''	61.9	3.62 dd (12.0, 6.7) 3.86 dd (12.0, 2.0)
14	44.0	–	Glc II		
15	35.6	1.24 d (15.7) 2.13 m	1'''	103.4	4.54 d (7.8)
			2'''	83.7	3.41 t (7.8)
			3'''	76.2	3.57 t (8.9)
			4'''	69.7	3.35 m
			5'''	76.7	3.34 m

Tableau 36 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 14** dans CD_3OD .

16	76.7	3.90 d (4.7)	6'''	61.2	3.69 dd (12.4, 6.2) 3.88 d (12.4)
17	43.9	–	Glc III		
18	51.0	1.56 dd (13.9, 4.5)	1''''		
19	38.4	2.40 dd (13.9, 12.2) 1.22 d (11.6)	2''''		
20	31.0	–	3''''		
21	36.0	1.15 m 2.30 m	4'''' 5''''		
22	30.8	1.57 m 1.79 d (13.2)	6''''		
23	26.8	1.09 s	Xyl		
24	15.3	0.89 s	1'''''	105.9	4.53 d (7.6)
25	15.8	0.92 s	2'''''	74.5	3.27 dd (8.7, 7.6)
26	17.4	1.17 s	3'''''	76.5	3.39 m
27	18.5	1.25 s	4'''''	69.6	3.54 m
28	77,3	3.14 d (7.6) 3.52 d (7.6)	5'''''	66.0	3.32 m 4.01 dd (11.3, 5.2)
29	32.5	0.97 s			
30	23.5	0.93 s			

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé Am 15

Les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am15** (Figures 168-169) montrent des signaux identiques à celui du composé **Am2**, sauf la disparition d'un signal correspondant au groupe hydroxyle en C-22 à δ_{C} 74.2 ppm du composé **Am 2**.

**Figure 168 :** Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 15**

- Analyse de spectre HSQC du composé Am 15

Le spectre HSQC du composé **Am15** (Figure 171) présente les mêmes corrélations du composé **Am2**, sauf l'absence du groupement hydroxyle sur le carbone 22.

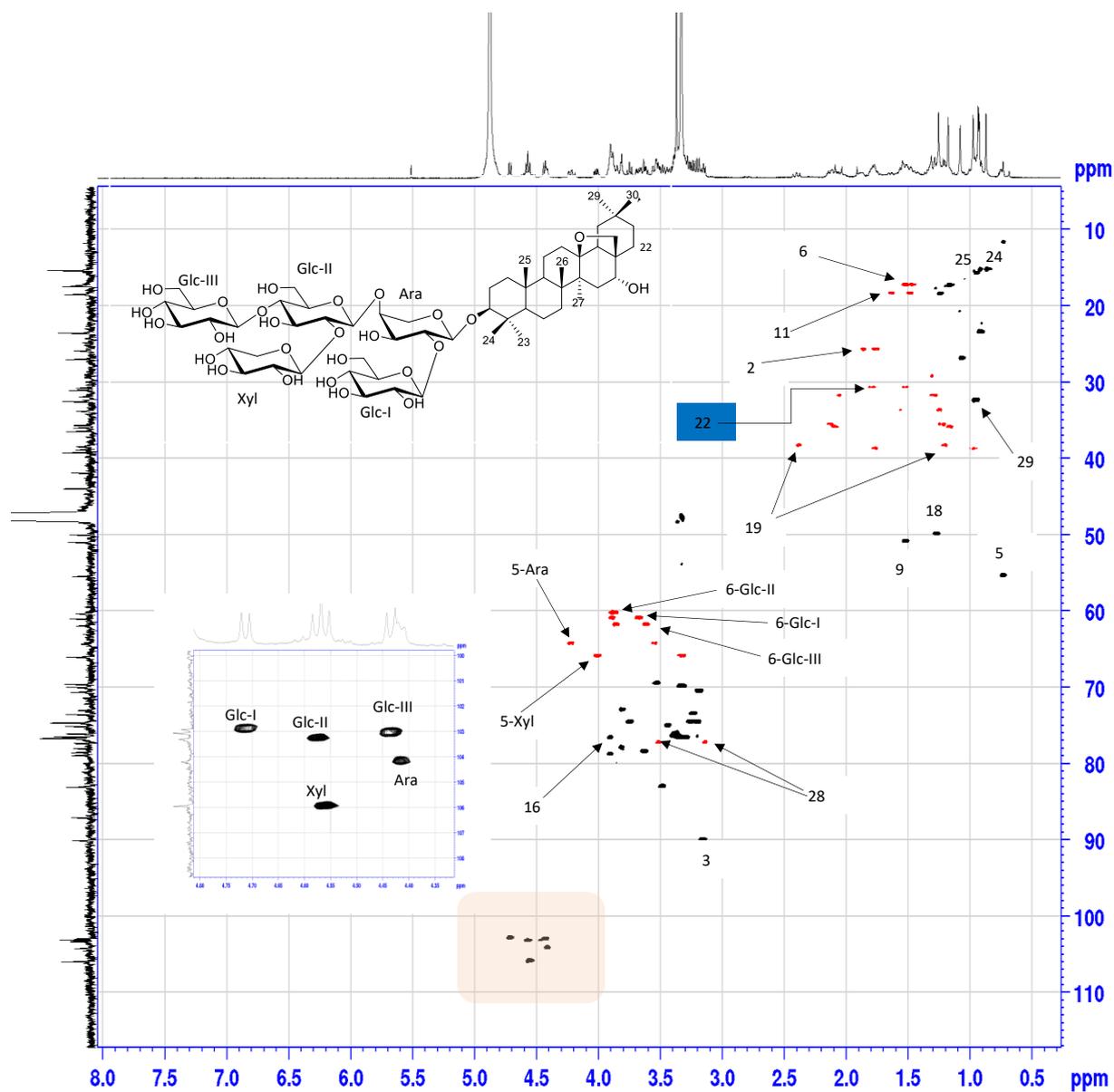


Figure 171 : Spectre HSQC du composé **Am 15**

- Analyse de spectre HMBC du composé Am 15

L'analyse du spectre HMBC (Figure 172) du composé **Am15** montre les mêmes corrélations que celui du composé **Am2**, sauf l'absence d'un groupement hydroxyle en position C-22 et l'apparition d'une corrélation entre le proton H-21 et C-22 à (δ_C 30.8 ppm) qui est blindé.

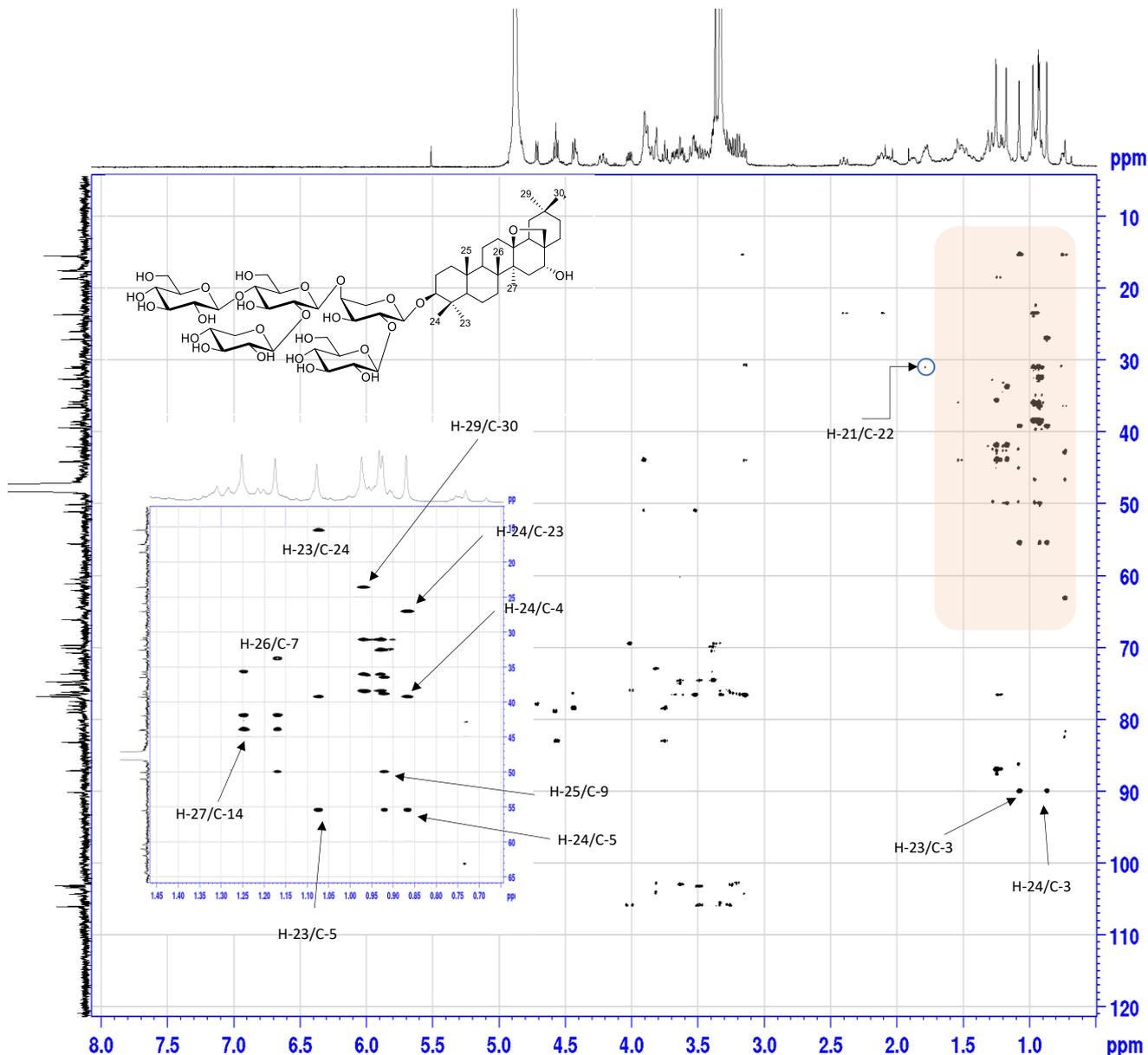


Figure 172 : Spectre de HMBC du composé **Am 15**

L'ensemble des informations précédemment citées plus les données obtenues par les analyses des spectres de RMN-2D du composé **Am15** confirment qu'il s'agit d'une structure connue identifiée à 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanana-3 β ,16 α -diol (**repandoside**), isolé précédemment de l'exsudat de la plante *Cyclamen repandum* (Dall'Acqua et al., 2010).

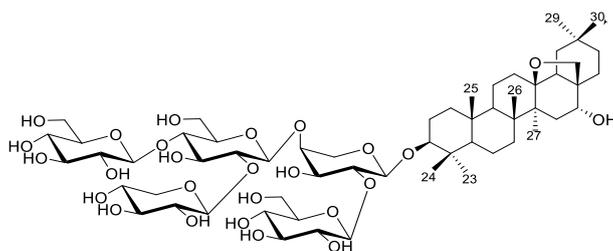


Tableau 37 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 15** dans CD_3OD .

Position	15		Position	15	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.8	0.93 m 1.70 m	Ara		
2	25.6	1.66 t (12.5) 1.80 m	1'	104.2	4.41 d (6.2)
3	90.2	3.18 m	2'	78.0	3.81 m
4	40.1	–	3'	72.9	3.79 m
5	55.4	0.69 m	4'	78.8	3.90 m
6	16.8	1.63 m 1.36 m	5'	64.3	3.55 dd (12.5) 4.22 d (12.5)
7	32.2	1.57 m 1.29 m	Glc I		
8	41.8	–	1''	103.1	4.43 d (8.3)
9	49.9	1.27 m	2''	73.5	3.24 t (8.9)
10	36.2	–	3''	76.6	3.30 m
11	18.5	1.55 m 1.51 m	4''	69.9	3.32 m
12	31.9	2.10 m 1.30 m	5''	76.7	3.30 m
13	87.0	–	6''	61.0	3.68 dd (10.4, 2.6) 3.89 m
14	44.0	–	Glc II		
15	35.6	1.24 d (15.7) 2.13 m	1'''	103.3	4.57 d (8.8)
16	76.7	3.90 d (4.7)	2'''	83.1	3.48 t (9.0)
17	43.9	–	3'''	74.7	3.75 t (9.0)
18	51.0	1.56 dd (13.9, 4.5)	4'''	78.5	3.63 t (8.9)
19	38.4	2.40 dd (13.9, 12.2) 1.22 d (11.6)	5'''	75.1	4.30 m
20	31.0	–	6'''	60.3	3.89 m 3.88 m
21	36.0	1.15 m 2.30 m	Glc III		
			1''''	102.9	4.71 d (7.3)
			2''''	74.6	3.10 dd (8.9, 7.3)
			3''''	76.4	3.39 m
			4''''	70.6	3.18 t (8.9)

Tableau 37 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 15** dans CD_3OD .

23	26.8	1.09 s	Xyl		
24	15.3	0.89 s	1''''''	105.9	4.56 d (7.8)
25	15.8	0.92 s	2''''''	74.6	3.26 t (7.8)
26	17.4	1.17 s	3''''''	76.1	3.37 m
27	18.5	1.25 s	4''''''	69.6	3.52 m
28	77,3	3.14 d (7.6) 3.52 d (7.6)	5''''''	66.0	3.32 m 4.01 dd (11.5, 5.7)
29	32.5	0.97 s			
30	23.5	0.93 s			

III.1.3.2. Détermination structurale des composés Am 16-Am 17

Les signaux des parties osiques dans les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés **Am16** et **Am17** sont similaires à ceux des composés **Am14** et **Am15**, respectivement, alors que ceux des parties aglycones sont identiques et ne diffèrent de ceux de **Am14** et **Am15** que par la présence des signaux de l'hydroxyle en C-23 cette différence a été mise en évidence par les spectres COSY, HSQC et HMBC.

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé Am 16

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **Am16** (Figures 173-174) montrent des signaux identiques à celui du composé **Am14**, sauf l'apparition d'un signal correspondant au groupe hydroxyle en position C-23 à δ_{C} 62.9 ppm dans le composé **Am 16**.

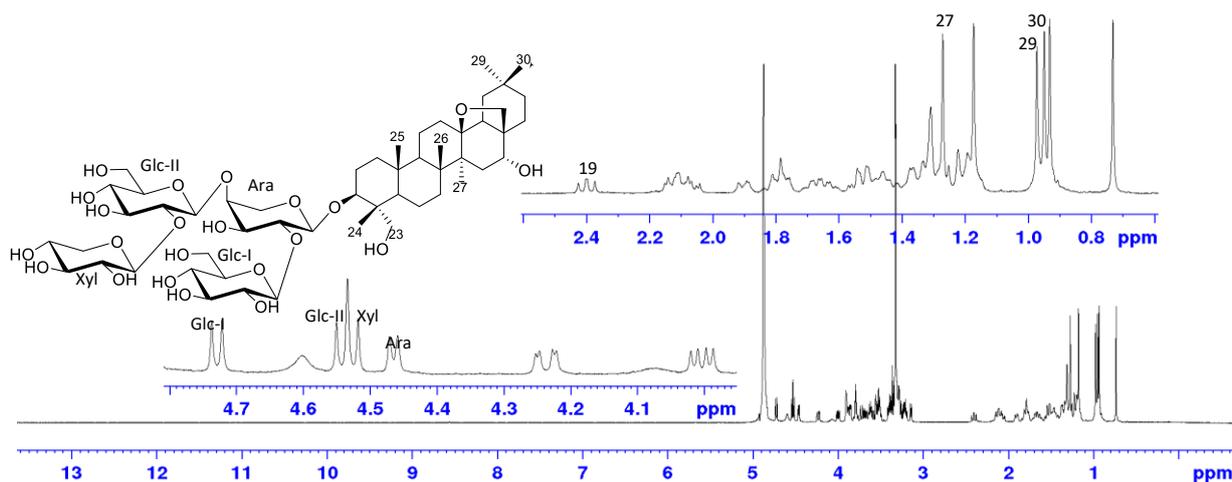


Figure 173 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 16**

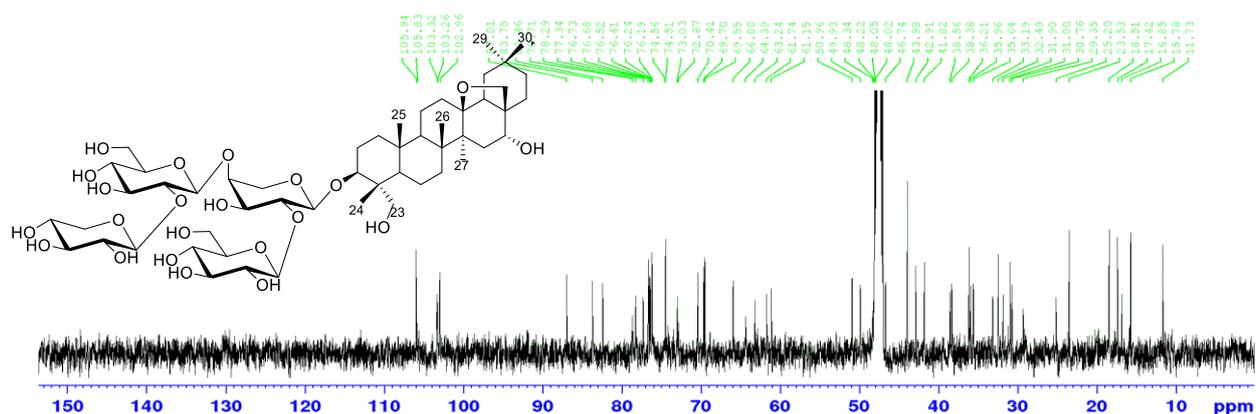


Figure 174 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 16**

- Analyse de spectre COSY du composé **Am 16**

Le spectre COSY (Figure 175) du composé **Am16** montre les mêmes corrélations que le composé **Am14**, sauf l'apparition d'une corrélation entre les protons géminés Ha,b-23 à δ_{H} 3.30 et 3.74 ppm du composé **Am16**. Ce qui confirme la présence du groupement hydroxyle sur le carbone 23 dans le composé **Am16**.

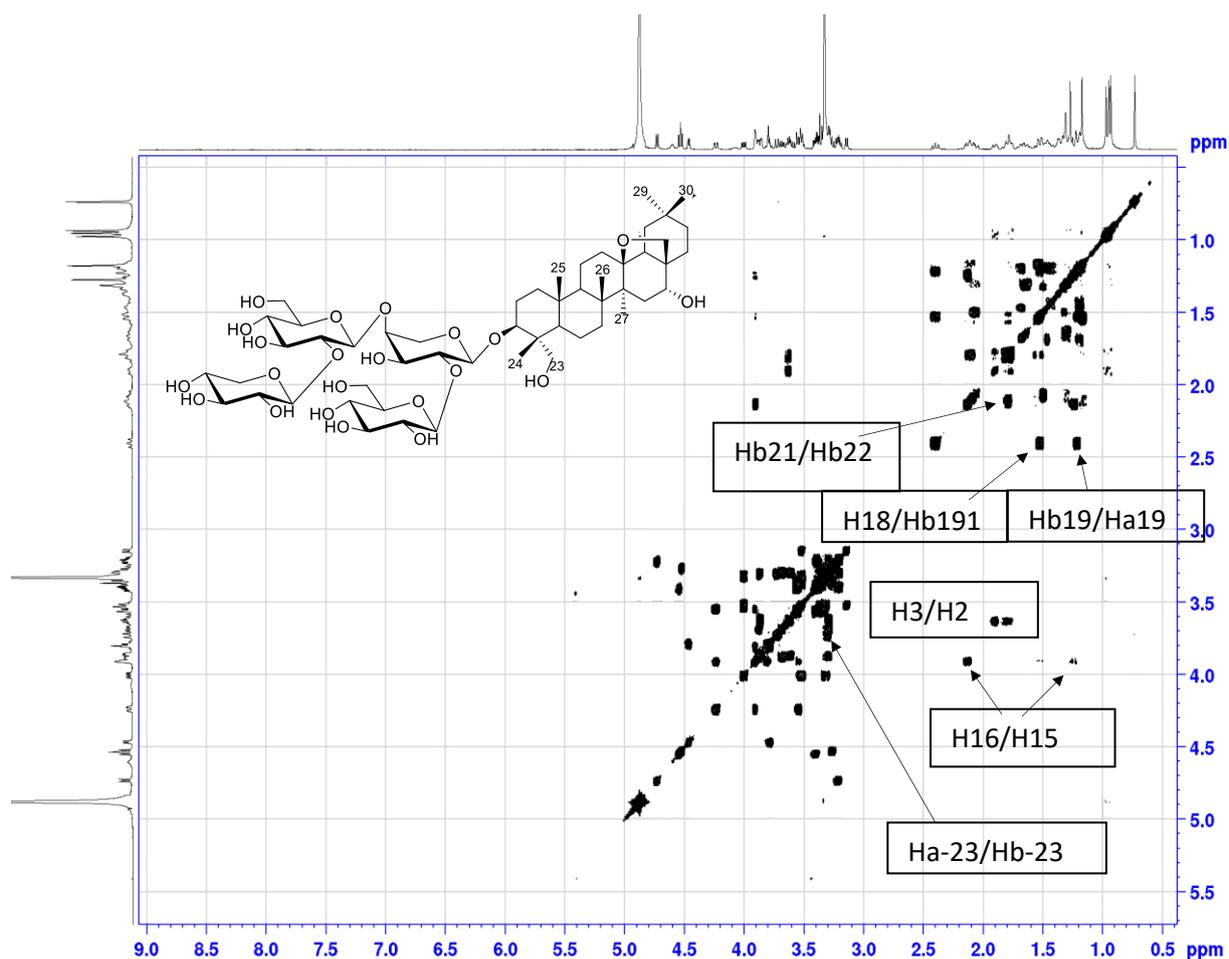


Figure 175 : Spectre de COSY du composé **Am 16**

- Analyse de spectre HSQC du composé Am 16

L'analyse de spectre HSQC (Figure 176) permet d'attribuer les déplacements chimiques des carbones portant les protons précédemment identifiés.

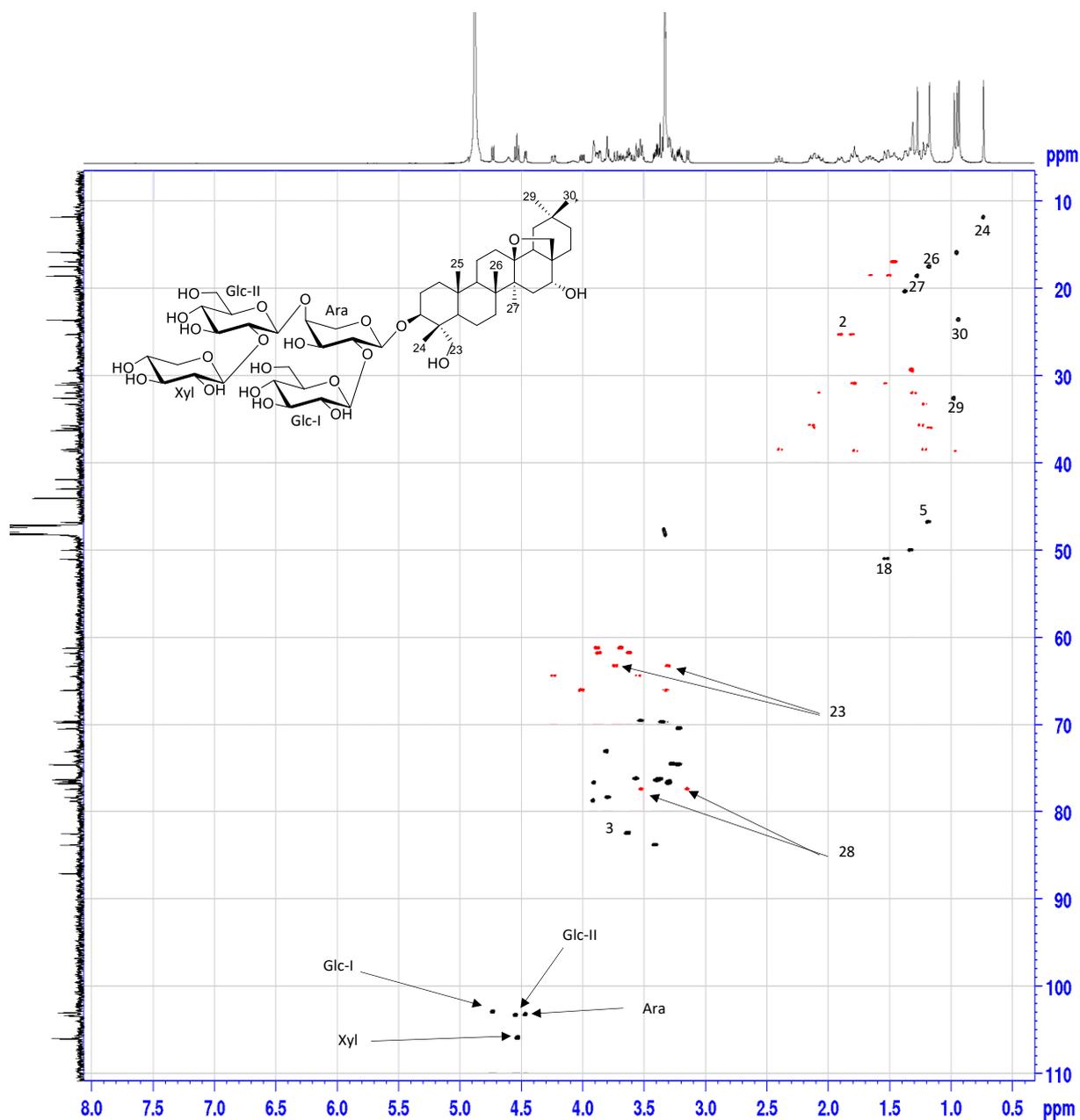


Figure 176 : Spectre HSQC du composé Am 16

- Analyse de spectre HMBC du composé Am 16

Les corrélations observées dans l'analyse du spectre HMBC (Figure 177) nous permettent de confirmer les informations précédentes sur les spectres COSY (Figure 175) et HSQC (Figure 176) concernant les positions des substituants.

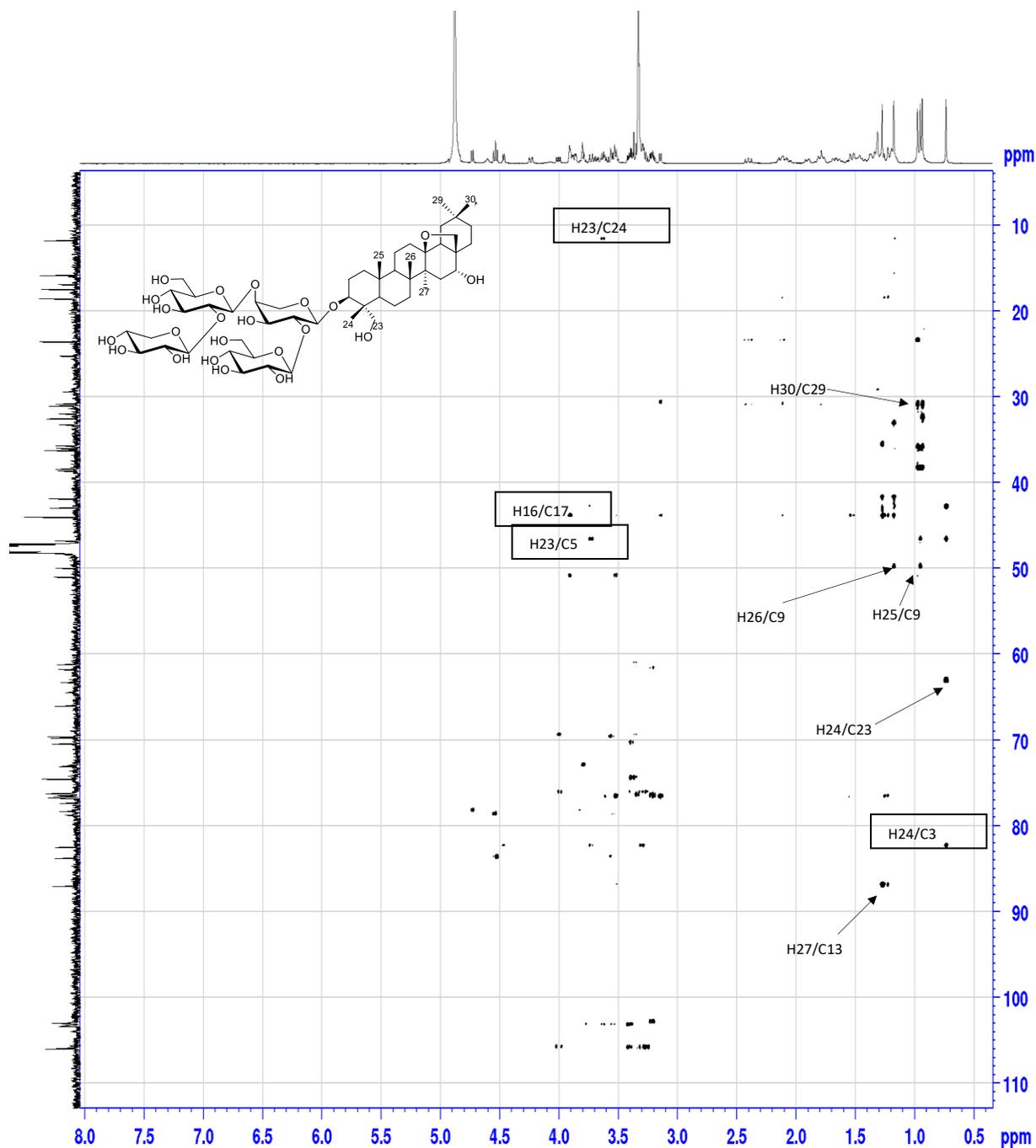


Figure 177 : Spectre HMBC du composé Am 16

L'analyse conjointe des spectres de RMN 1D et 2D permet l'attribution complète des carbones et protons de ce composé (Tableau 38). Le composé **Am16** est identifié à 3-O- β -D-

xylopyranosyl-(1→2) -β-D-glucopyranosyl-(1→4)- [β-D-glucopyranosyl-(1→2)-]α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan- 3β,16α,23α-triol (**desgluconagalloside B**), isolé de l'exsudat de la plante *Anagallis arvensis* (Shoji et al., 1994b).

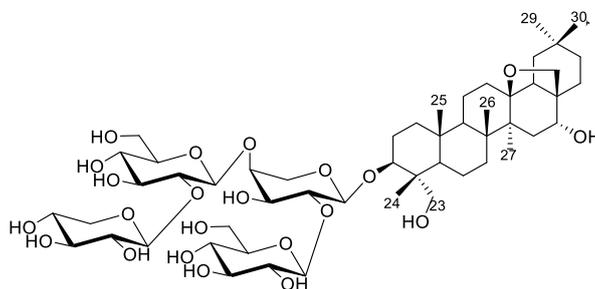


Tableau 38 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 16** dans CD_3OD .

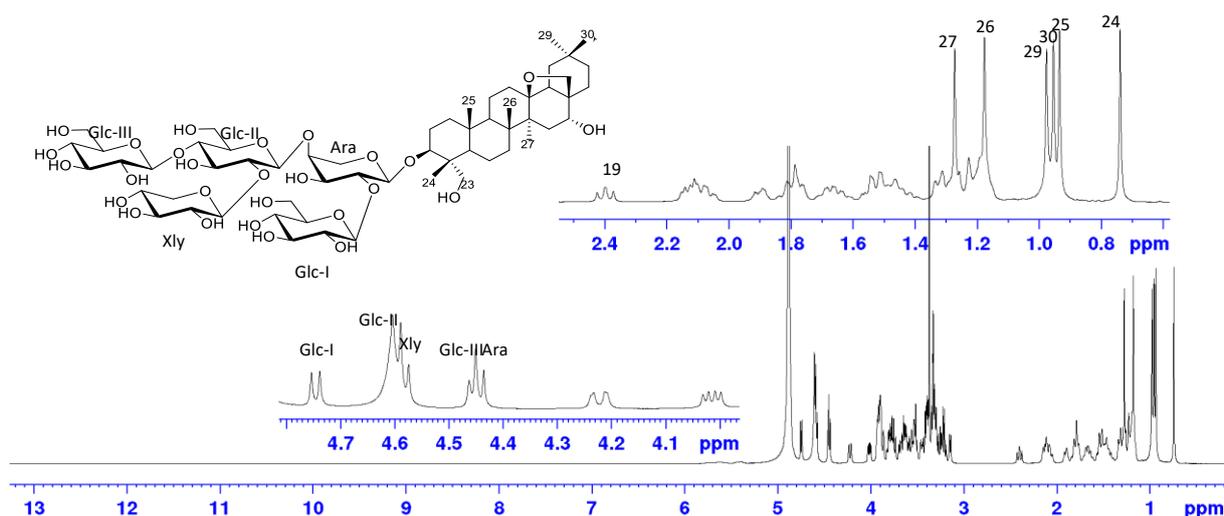
Position	16		Position	16	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	0.98 m 1.77 m	Ara		
2	25.3	1.80 m 1.90 m	1'	103.3	4.46 d (5.4)
3	81.9	3.62 dd (11.0, 4.9)	2'	78.3	3.79 m
4	42.9	–	3'	73.1	3.80 m
5	46.4	1.18 m	4'	78.7	3.90 m
6	16.8	1.44 m 1.47 m	5'	64.4	3.54 m 4.24 dd (12.7, 3.3)
7	33.2	1.26 m 1.56 m	Glc I		
8	41.8	–	1''	102.9	4.73 d (7.6)
9	49.9	1.32 m	2''	74.6	3.22 dd (8.8, 7.6)
10	36.2	–	3''	76.4	3.39 t (9.2)
11	18.5	1.49 m 1.64 m	4''	70.4	3.21 t (9.1)
12	31.9	1.29 m 2.07 m	5''	76.7	3.30 m
13	87.0	–	6''	61.7	3.63 m 3.86 dd (11.9, 4.8)
14	44.0	–	Glc II		
15	35.6	1.24 m 2.13 m	1'''	103.4	4.54 d (7.8)
16	76.7	4.91 d (6.3)	2'''	83.7	3.40 t (8.7)
17	43.9	–	3'''	76.2	3.56 m
18	51.0	1.47 dd (14.0, 2.5)	4'''	69.7	3.35 m
			5'''	76.7	3.30 m
			6'''	61.2	3.65 dd (11.9, 5.7) 3.85 d (11.9, 4.8)
			Glc III		
			1''''		

Tableau 38 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 16** dans CD_3OD .

19	38.4	1.15 m 2.45 dd (14.0, 2.5)	2''''		
20	31.0	–	3''''		
21	36.0	1.17 m	4''''		
		2.11 m	5''''		
22	30.8	1.52 m	6''''		
		1.79 d (12.5)			
23	62.9	3.30 d (10.2)	Xyl		
		3.74 d (10.2)			
24	11.9	0.74 s	1''''	105.9	4.52 d (7.6)
25	15.8	0.93 s	2''''	74.5	3.27 t (7.9)
26	17.4	1.17 s	3''''	76.5	3.35 m
27	18.5	1.27 s	4''''	69.6	3.52 m
28	77,3	3.14 d (7.5)	5''''	66.0	3.31 m
		3.50 d (7.5)			4.00 dd (11.3, 5.4)
29	32.5	0.98 s			
30	23.5	0.95 s			

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé Am 17

Les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 17** (Figures 178-179) montrent des signaux identiques à celui du composé **Am 16** dans la partie aglycone (Figures 173-174). En revanche, dans la partie glycoside le composé **Am 17** montre des signaux identiques à celui du composé **Am 15** (Figures 168-169).

**Figure 178 :** Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomérique du composé **Am 17**

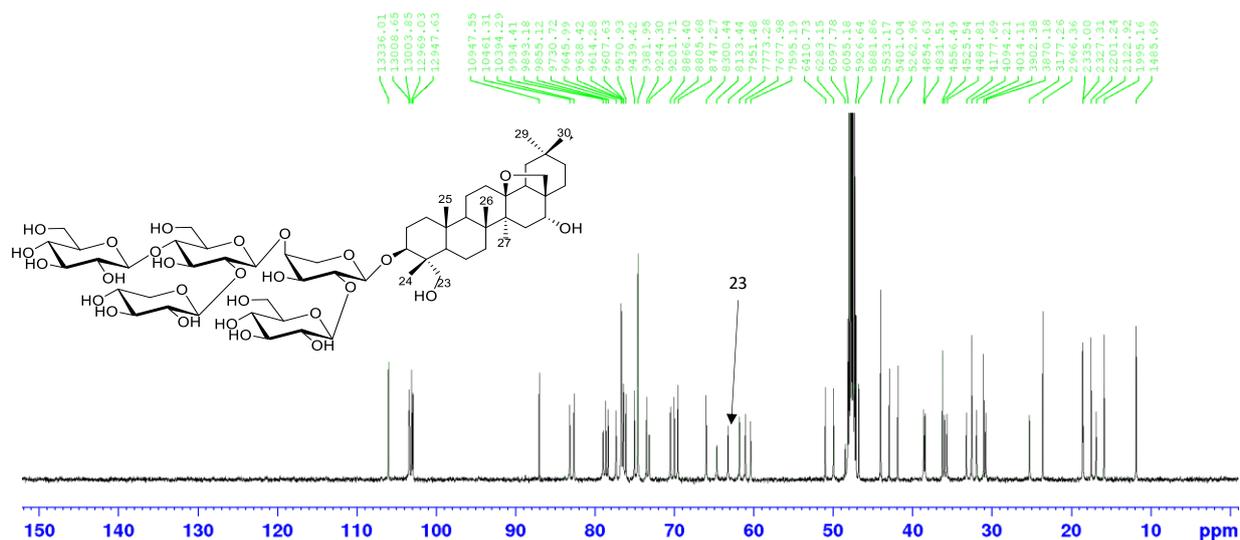


Figure 179 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 17

- Analyse de spectre COSY du composé Am 17

Le spectre COSY (Figure 179) montre les différentes corrélations entre les protons voisins présentés dans le composé Am17.

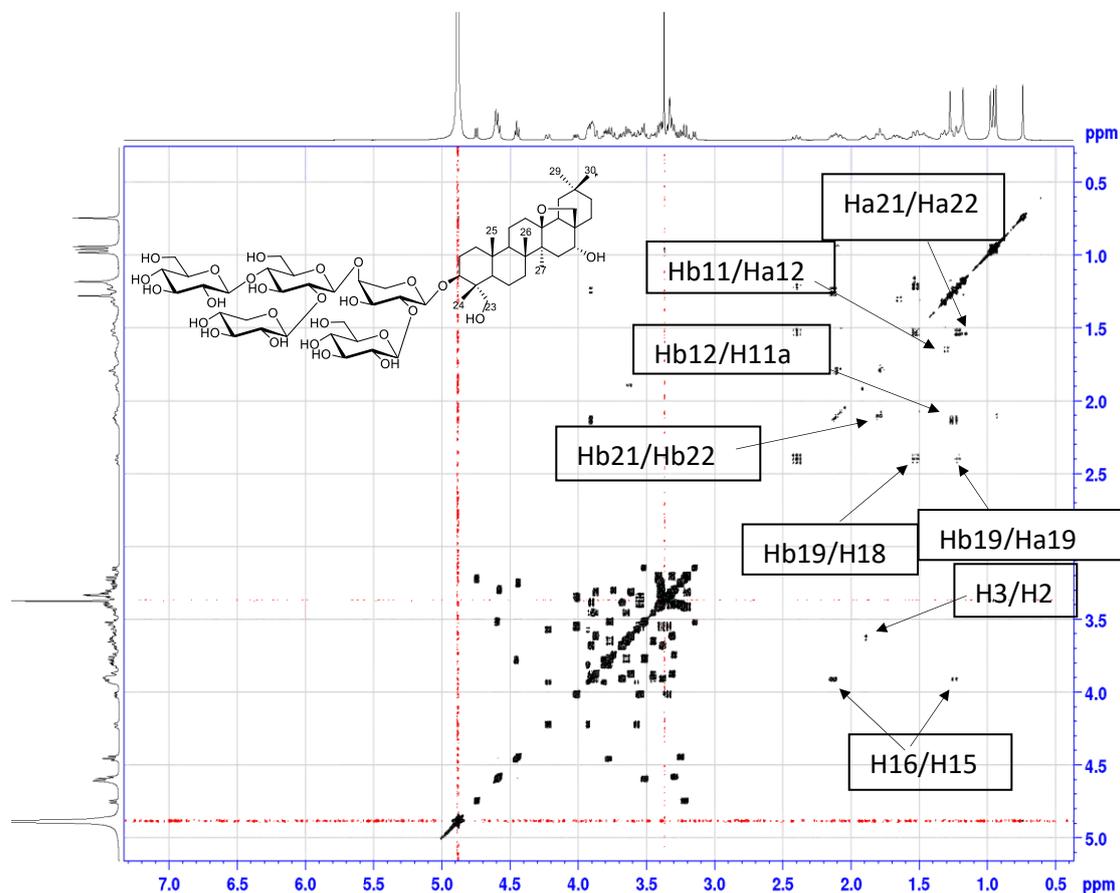
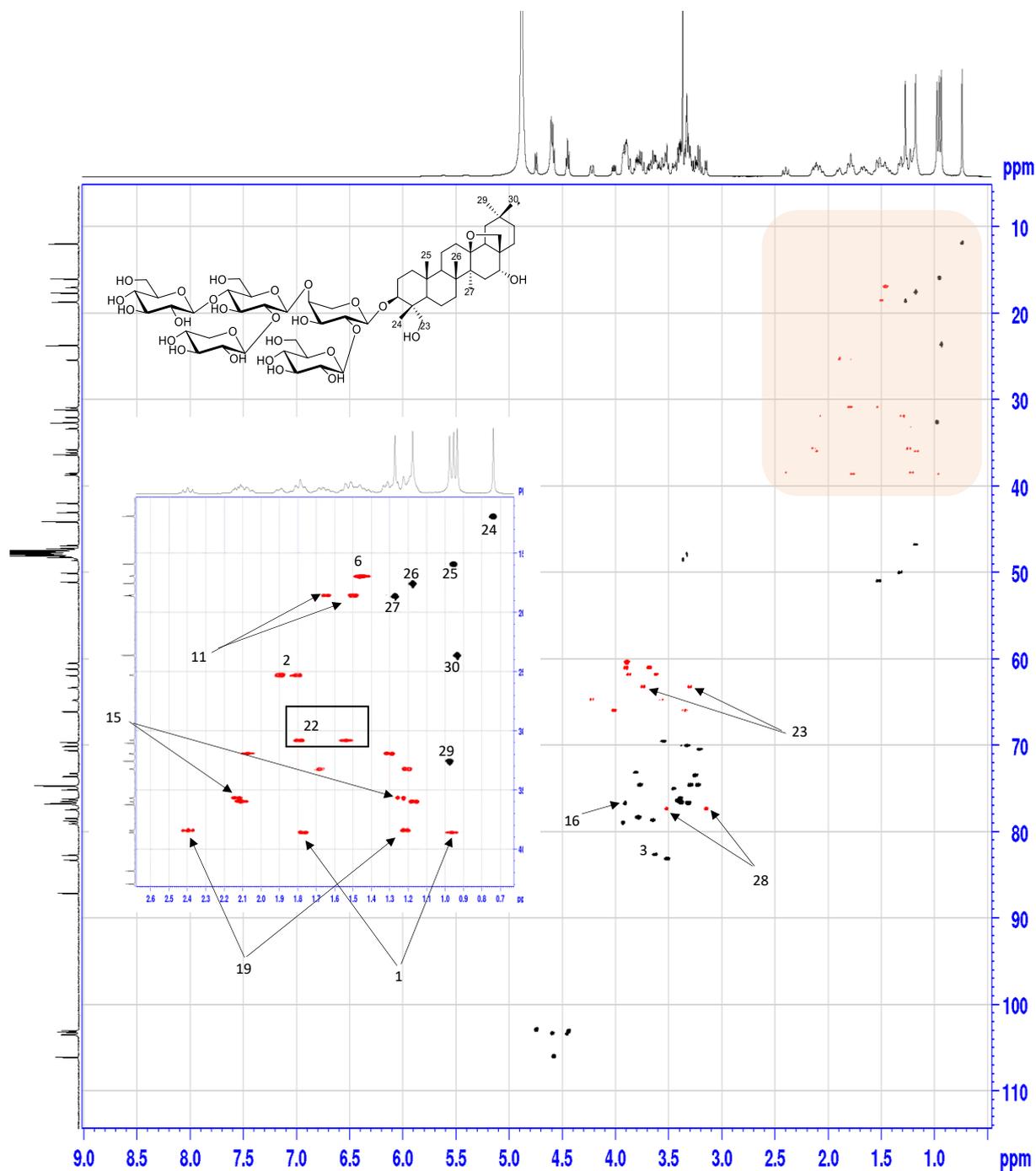


Figure 180 : Spectre de COSY du composé Am 17

- Analyse de spectre HSQC du composé Am 17

L'analyse des corrélations observées sur le spectre HSQC (Figure 181) nous a permis d'attribuer les carbones à partir des protons correspondants identifiés grâce à l'analyse du spectre RMN ^1H et COSY.



- Analyse de spectre HMBC du composé Am 17

Les résultats obtenus à ce stade sont confirmés par l'analyse des corrélations observées sur le spectre HMBC, l'analyse du spectre HMBC (Figure 182) du composé **Am17** permet de confirmer et compléter les informations décrites précédemment sur les spectres COSY (Figure 180) et HSQC (Figure 181).

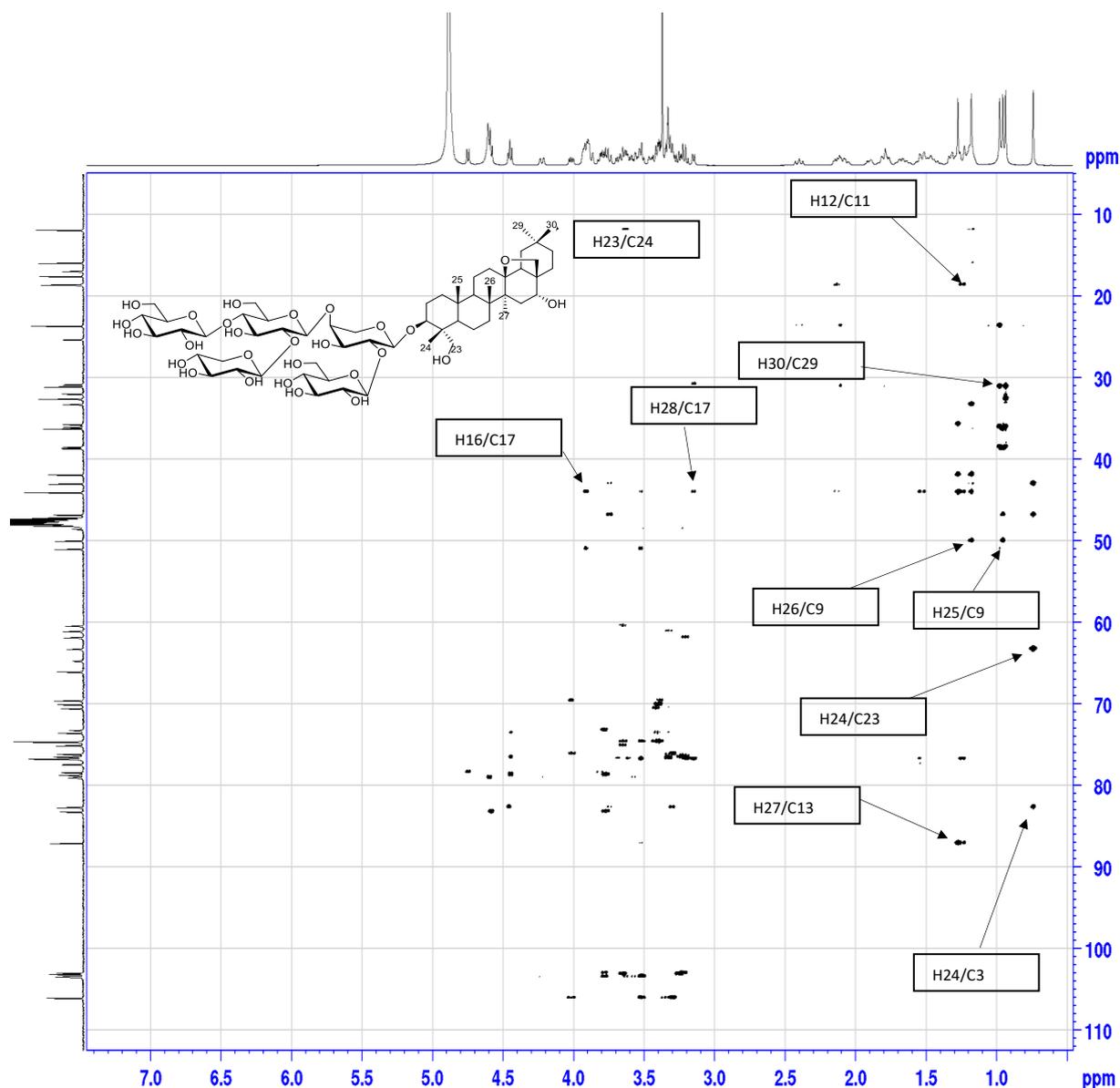


Figure 182 : Spectre HMBC du composé **Am 17**

L'ensemble des données (Tableau 39) obtenues par les analyses des spectres de RMN-1D et RMN-2D du composé **Am17** confirment qu'il s'agit d'une structure connue en comparant avec la littérature, est identifiée comme le 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl- (1 \rightarrow 4)[β -D-glucopyranosyl- (1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol (**anagalloside B**) (Glombitza et al., 1987b).

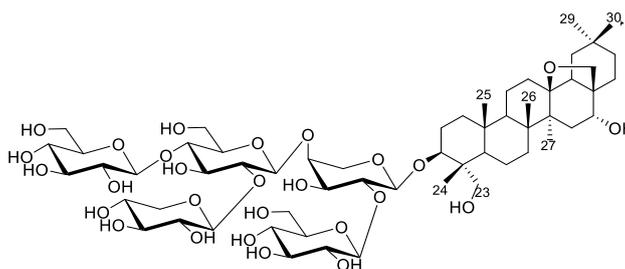


Tableau 39 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 17** dans CD_3OD .

Position	17		Position	17	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	0.98 m	Ara		
		1.77 m	1'	103.3	4.45 d (6.3)
2	25.3	1.80 m	2'	78.3	3.78 m
		1.90 m			
3	81.9	3.62 dd (11.0, 4.9)	3'	73.1	3.81 m
4	42.9	–	4'	78.8	3.92 m
5	46.4	1.18 m	5'	64.4	3.55 m
					4.22 dd (12.7, 2.8)
6	16.8	1.44 m	Glc I		
			1.47 m	1''	103.0
7	33.2	1.26 m	2''	74.6	3.21 dd (9.2, 7.7)
		1.56 m			
8	41.8	–	4''	70.4	3.20 t (9.2)
9	49.9	1.32 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.2	–	6''	61.8	3.62 dd (12.0, 6.6)
					3.87 dd (12.0, 1.6)
11	18.5	1.49 m	Glc II		
		1.64 m	1'''	103.3	4.59 d (7.7)
12	31.9	1.29 m	2'''	83.1	3.50 dd (9.2, 7.7)
2.07 m					
13	87.0	–	3'''	74.7	3.75 t (9.2)
14	44.0	–	4'''	78.5	3.64 t (9.5)
15	35.6	1.24 m	6'''	60.3	3.87 d (12.4)
		2.13 m			
16	76.7	4.91 d (6.3)	Glc III		
17	43.9	–	1''''	102.9	4.43 d (7.9)
18	51.0	1.47 dd (14.0, 2.5)	2''''	74.6	3.24 t (8.2)
		2.45 dd (14.0, 2.5)			
19	38.4	1.15 m	3''''	76.4	3.39 t (8.9)
20	31.0	–			

Tableau 39 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 17** dans CD_3OD .

21	36.0	1.17 m	4''''	70.6	3.33 m
		2.11 m	5''''	76.7	3.36 m
22	30.8	1.52 m	6''''	61.9	3.68 dd (11.8, 5.5)
		1.79 d (12.5)			3.89 m
23	62.9	3.30 d (10.2) 3.74 d (10.2)	Xyl		
24	11.9	0.74 s	1''''	105.9	4.56 d (7.9)
25	15.8	0.93 s	2''''	74.6	3.27 dd (9.2, 7.7)
26	17.4	1.17 s	3''''	76.1	3.37 t (9.2)
27	18.5	1.27 s	4''''	69.6	3.53 m
28	77,3	3.14 d (7.5)	5''''	66.0	3.32 m
		3.50 d (7.5)			4.01 dd (11.3, 5.3)
29	32.5	0.98 s			
30	23.5	0.95 s			

III.1.3.3. Détermination structurale du composé Am 18

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé Am 18

Les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 18** (Figures 183-184) montrent des signaux identiques à celui du composé **Am 15**, sauf l'apparition d'un signal correspondant au groupe acétyle sur le carbone C-22 à δ_{C} 76.7 ppm du composé **Am 18**.

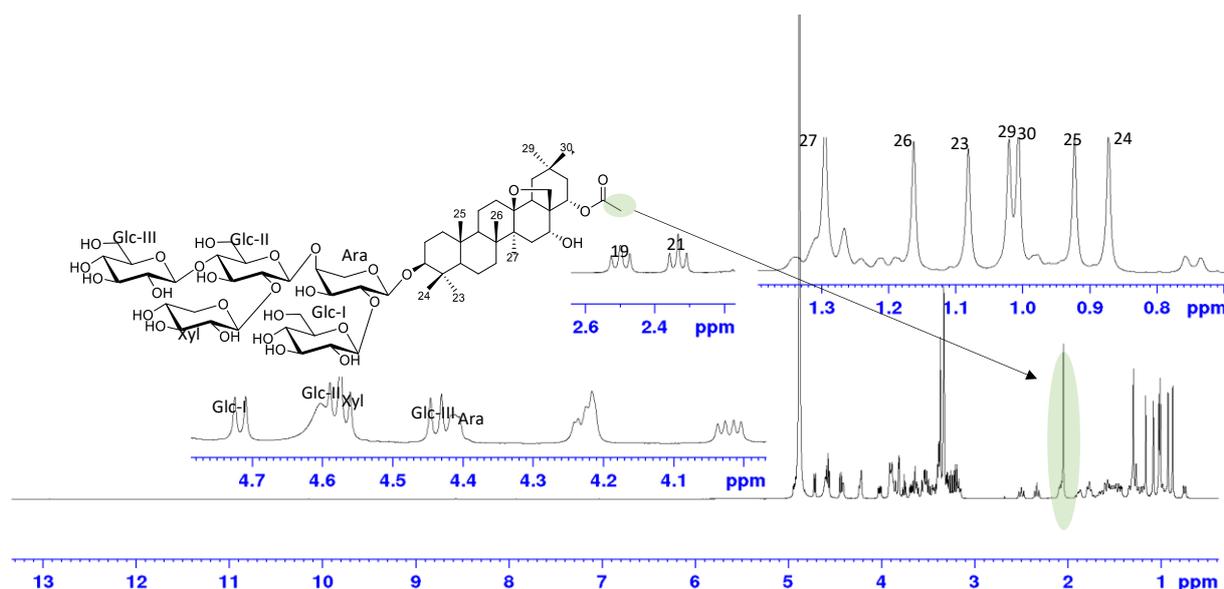


Figure 183 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 18**

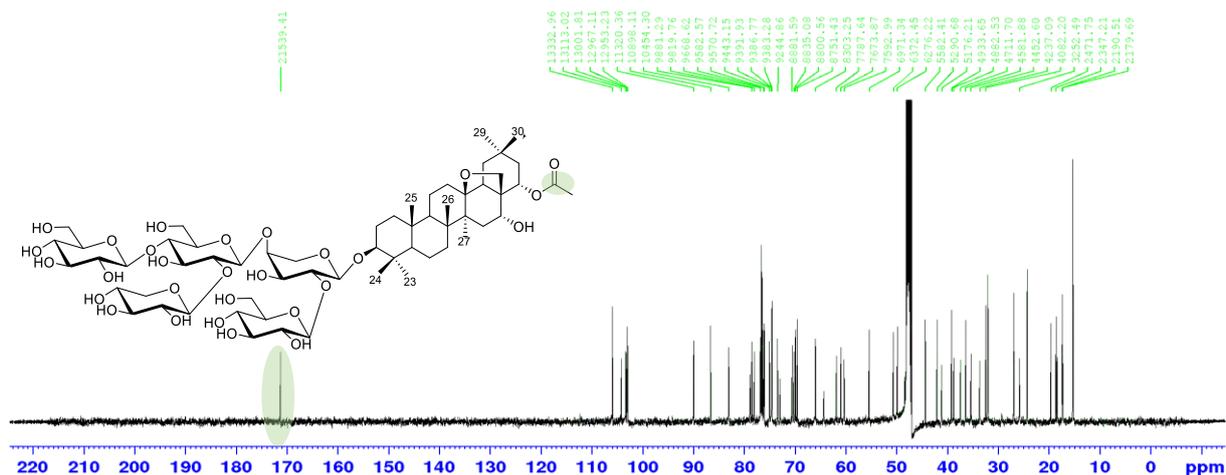


Figure 184 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 18.

- Analyse de spectre COSY du composé Am 18

L'analyse du spectre COSY (Figure 185) nous a montré une corrélation entre le proton H-22 à δ_{H} 4.93 et les deux protons géminés $\text{H}_{\text{a,b}}$ -21 à δ_{H} 1.43 et à δ_{H} 2.33 ppm, respectivement. Ce déplacement chimique vers le champ faible nous confirme la présence un groupement acétyle en cette position.

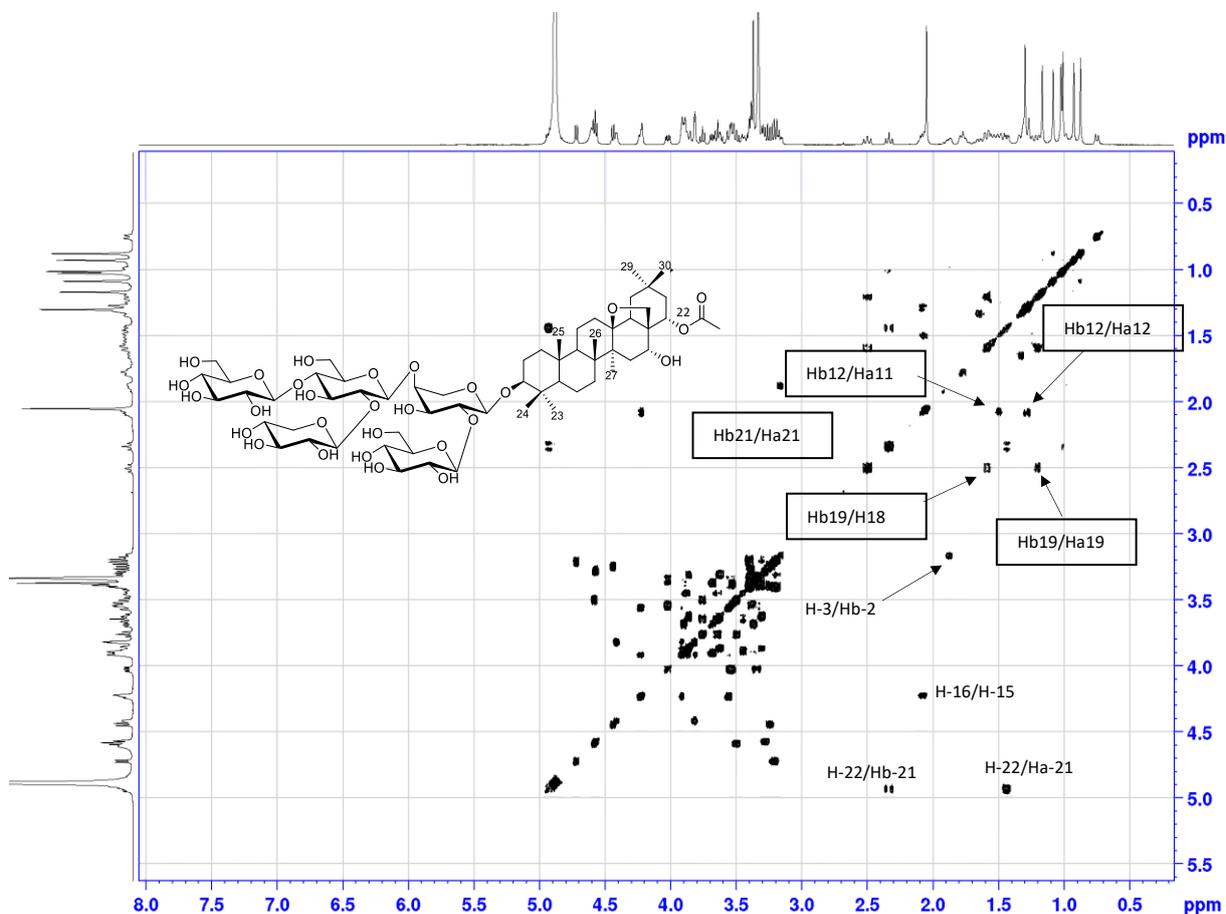


Figure 185 : Spectre de COSY du composé Am 18

- Analyse de spectre HSQC du composé Am 18

Après l'analyse du spectre HSQC du composé **Am 18** (Figure 186) et l'avoir comparé avec celui de **Am 15**, nous avons observé la présence d'un méthyle deblindé avec un déplacement chimique à δ_H 2.05 ppm corrélé au carbone à δ_C 19.5 ppm.

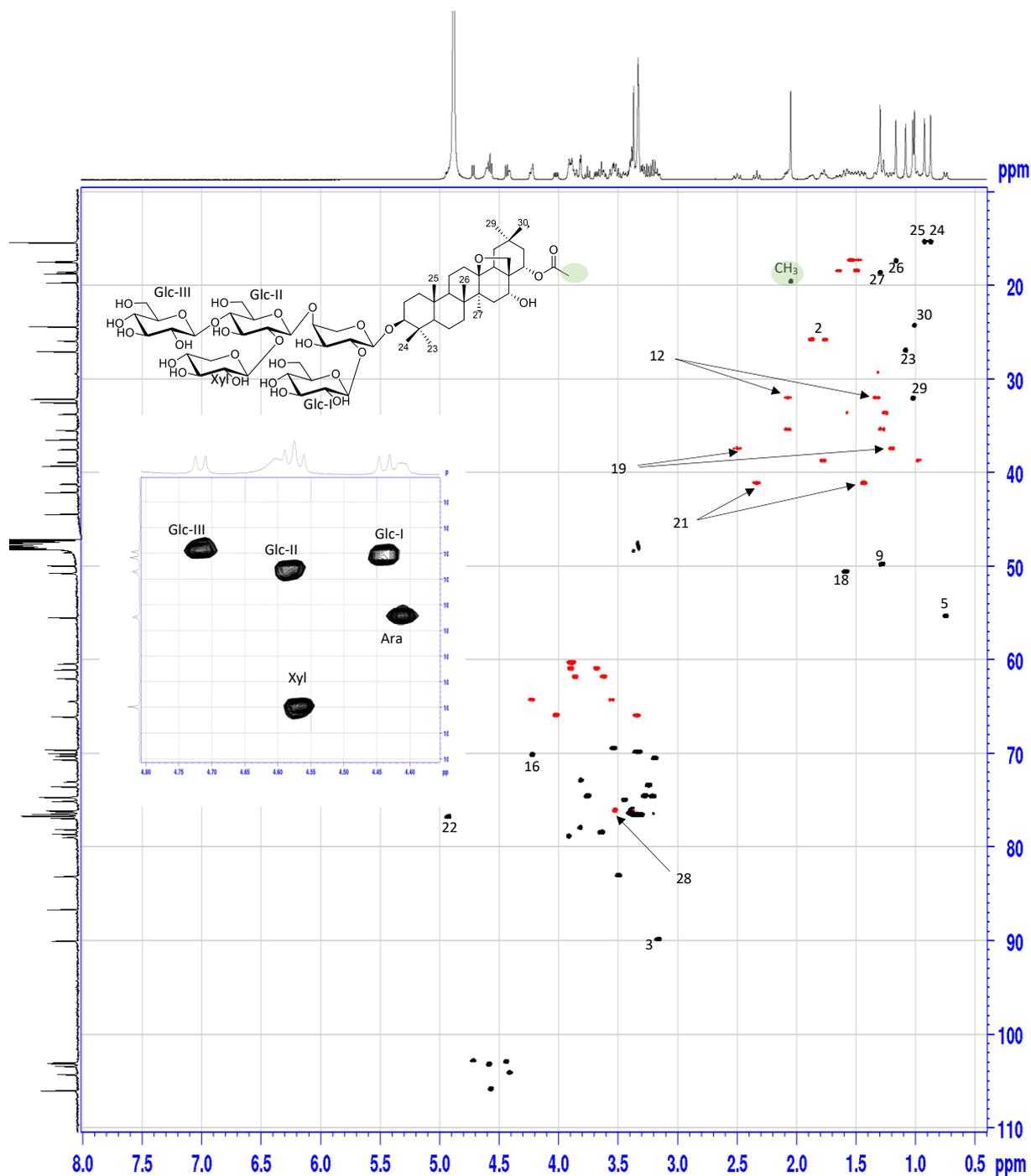


Figure 186 : Spectre HSQC du composé **Am 18**.

- Analyse de spectre HMBC du composé Am 18

L'analyse des corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 187) a permis d'attribuer le carbone quaternaire de l'acétyle à partir des protons correspondants identifiés grâce à l'analyse du spectre HSQC et COSY.

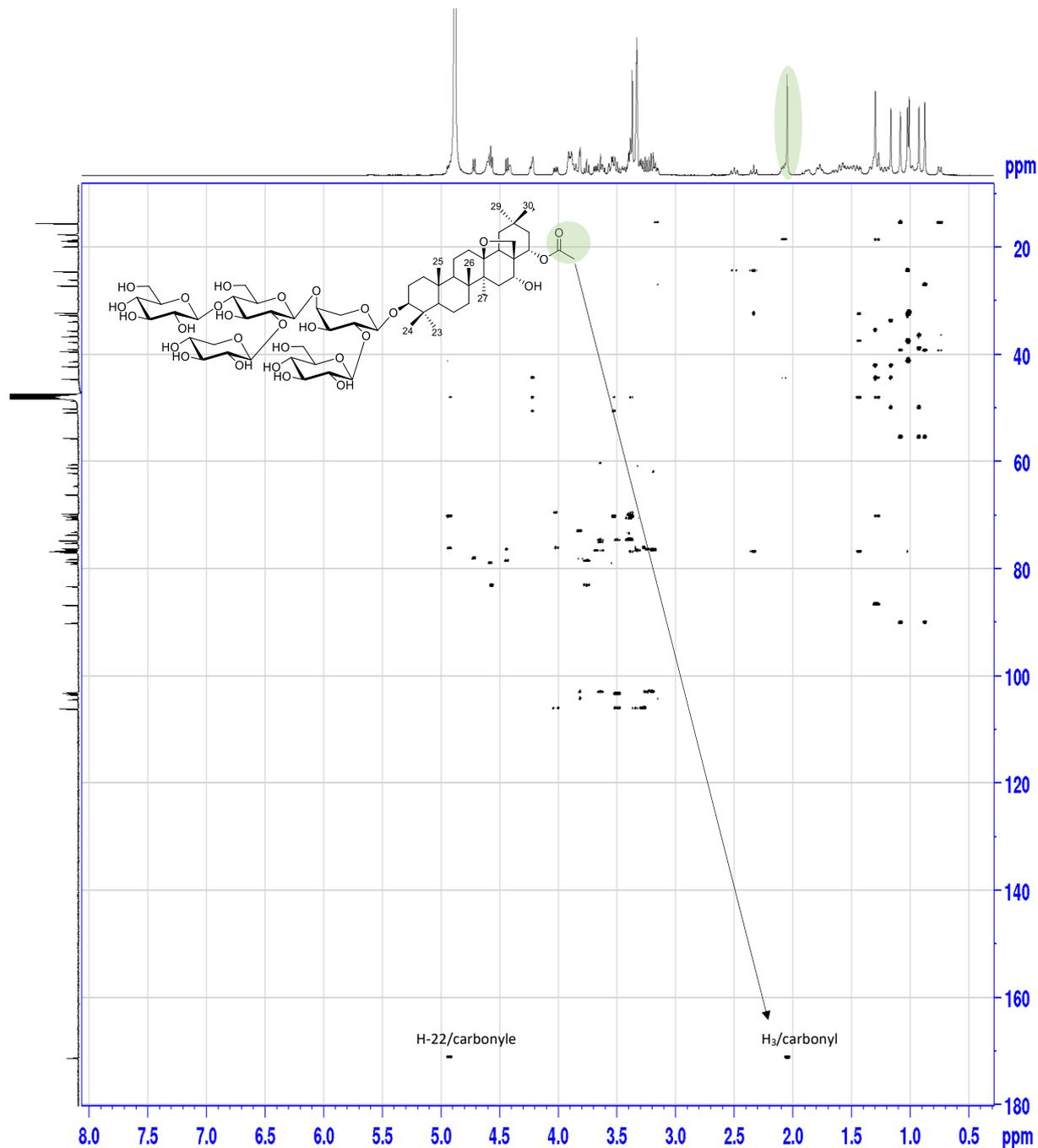


Figure 187 : Spectre HMBC du composé **Am 18**.

L'ensemble de toutes les données de RMN (Tableau 40) nous permet d'identifier le composé **Am18** comme étant le 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-

glucopyranosyl-(1→4)-[β-D- glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-22-acétyl-13,28-époxyoléanan- 3β,16α,22α-triol (**Anagalloside C**) (Glombitza et al., 1987b).

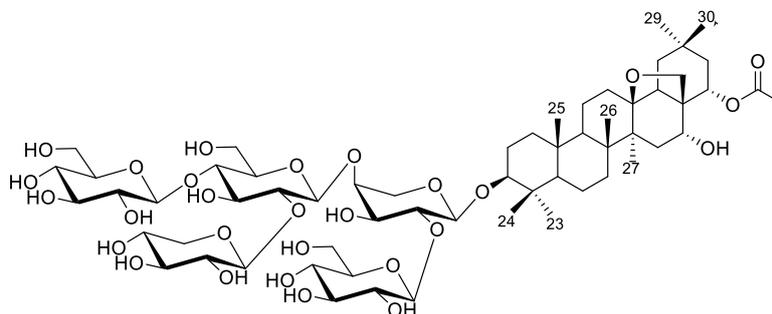


Tableau 40 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 18** dans CD_3O

Position	18		Position	18	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.8	0.97 m	Ara		
		1.77 m	1'	103.3	4.46 d (6.3)
2	25.8	1.76 m	2'	78.3	3.79 m
		1.87 m			
3	90.0	3.16 dd (11.7, 4.3)	3'	73.1	3.80 m
4	39.2	–	4'	78.8	3.91 m
5	55.4	0.74 dd (11.5, 1.9)	5'	64.4	3.55 dm (12.6) 4.22 dd (12.6, 2.9)
6	17.3	1.46 m 1.53 m	Glc I		
			1''	102.9	4.73 d (7.7)
7	32.7	1.25 m 1.56 m	2''	74.6	3.24 t (9.4, 7.7)
			3''	76.4	3.39 t (9.2)
8	42.1	–	4''	70.4	3.20 t (9.3)
9	49.9	1.28 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.4	–	6''	61.7	3.62 dd (12.1, 6.7) 3.87 dd (12.1, 2.1)
11	18.5	1.49 m 1.64 m	Glc II		
			1'''	103.2	4.58 d (7.8)
12	32.1	1.31 m 2.06 m	2'''	83.1	3.48 dd (9.0, 7.8)
13	86.9	–	3'''	74.6	3.75 t (9.1)
14	44.5	–	4'''	78.5	3.63 t (9.2)
			5'''	75.1	3.44 dt (9.6, 3.6)
15	35.5	1.27 m 2.08 dt (14.3, 5.5)	6'''	60.3	3.88 m 3.88 m
16	70.2	4.22 br s	Glc III		
17	48.1	–	1''''	103.1	4.43 d (7.9)
18	50.7	1.59 dd (13.9, 1.6) 2.49 dd (13.9, 12.5)	2''''	73.5	3.23 dd (9.0, 7.9)
19	37.6	–			

Tableau 40 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 18** dans CD_3O

20	32.5	–	3''''	76.4	3.37 t (9.0)
21	44.1	1.43 m 2.33 dd (11.9, 4.9)	4''''	69.9	3.32 m
			5''''	76.7	3.35 m
22	76.7	4.93 m	6''''	61.0	3.68 dd (11.7, 5.2) 3.89 dd (11.7, 1.9)
23	27.0	1.07 s	Xyl		
24	15.3	0.86 s	1''''	106.0	4.56 d (7.5)
25	15.3	0.92 s	2''''	74.6	3.26 dd (8.2, 7.5)
26	17.4	1.17 s	3''''	76.1	3.37 m
27	18.7	1.28 s	4''''	69.6	3.52 m
28	76,2	3.36 m 3.52 m	5''''	66.0	3.32 m
					4.00 dd (11.4, 5.2)
29	32.1	1.00 s			
30	24.3	0.96 s			
	OAc 171.5	-			
CH ₃	19.5	2.05 s			

III.1.3.4. Détermination structurale du composé **Am 19**

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé **Am 19**

Sur les spectres de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) (Figure 188) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) (Figure 169), nous retrouvons les signaux des protons et des carbones (Tableau 41) caractéristiques du précédent composé **Am 18**, sauf pour la présence d'un groupement hydroxyle sur le carbone 23.

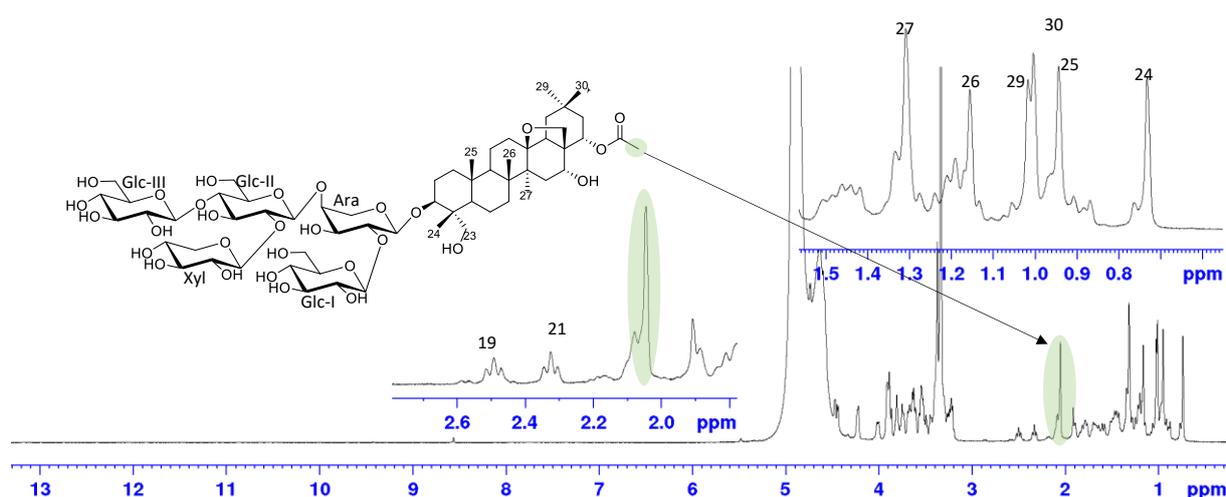


Figure 188 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 19**

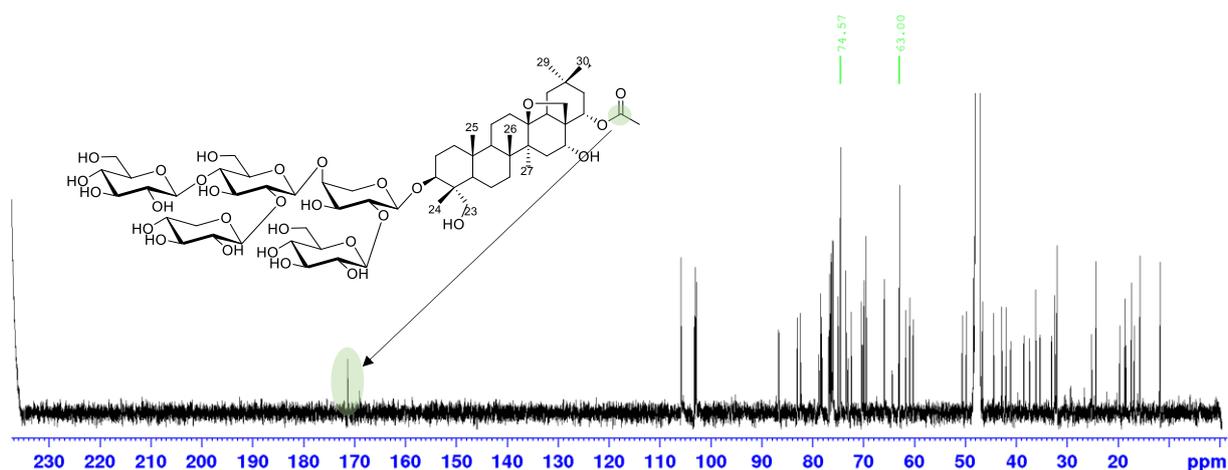


Figure 189 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 19.

- Analyse de spectre COSY du composé Am 19

L'analyse du spectre de COSY (Figure 190) nous permet d'observer la corrélation entre les deux protons $\text{H}_{a, b-23}$ à δ_{H} 3.30 et 3.74 ppm, ce qui nous confirme que la position 23 est hydroxylée.

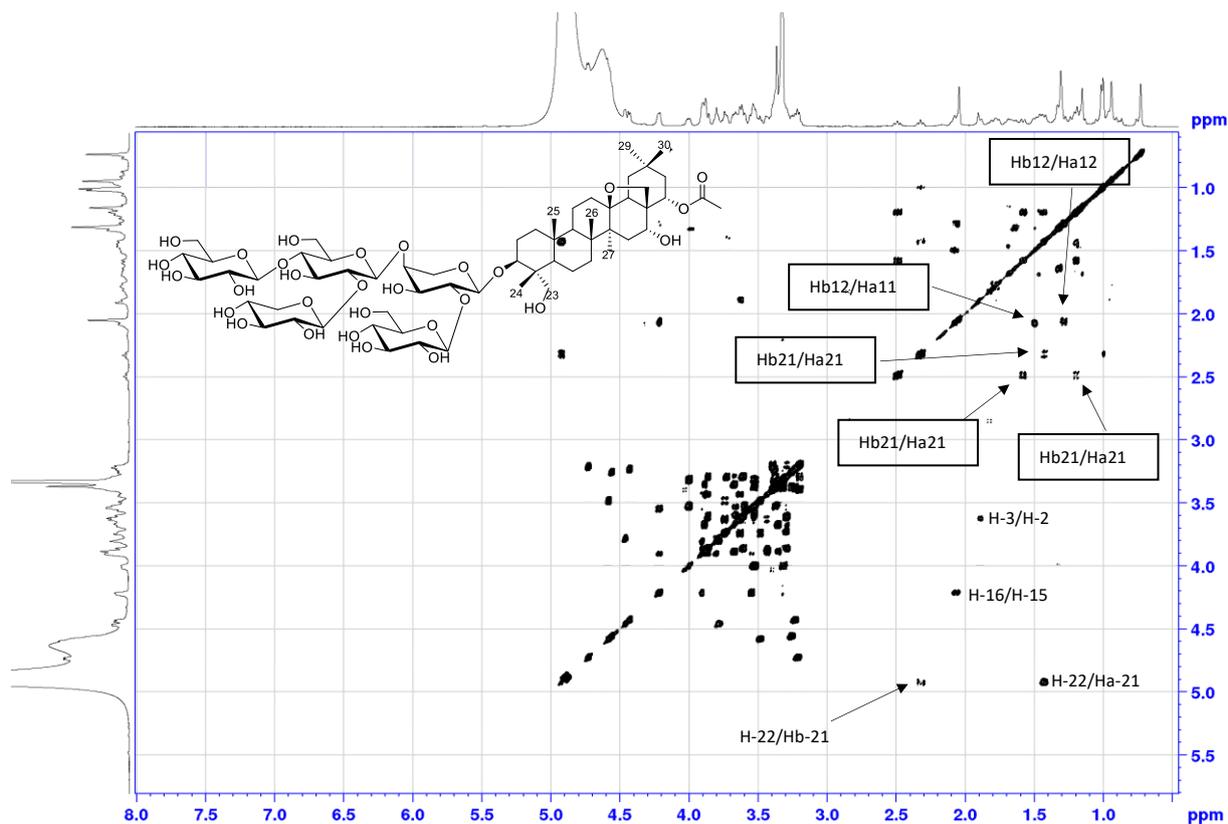


Figure 190 : Spectre de COSY du composé Am 19.

- Analyse de spectre HSQC du composé Am 19

L'analyse du spectre HSQC (Figure 191) permet d'attribuer le déplacement chimique du carbone portant le proton à δ_H 4.93 ppm avec sa corrélation au signal à δ_C 76.7 ppm et qui correspond à une acétylation en position 22.

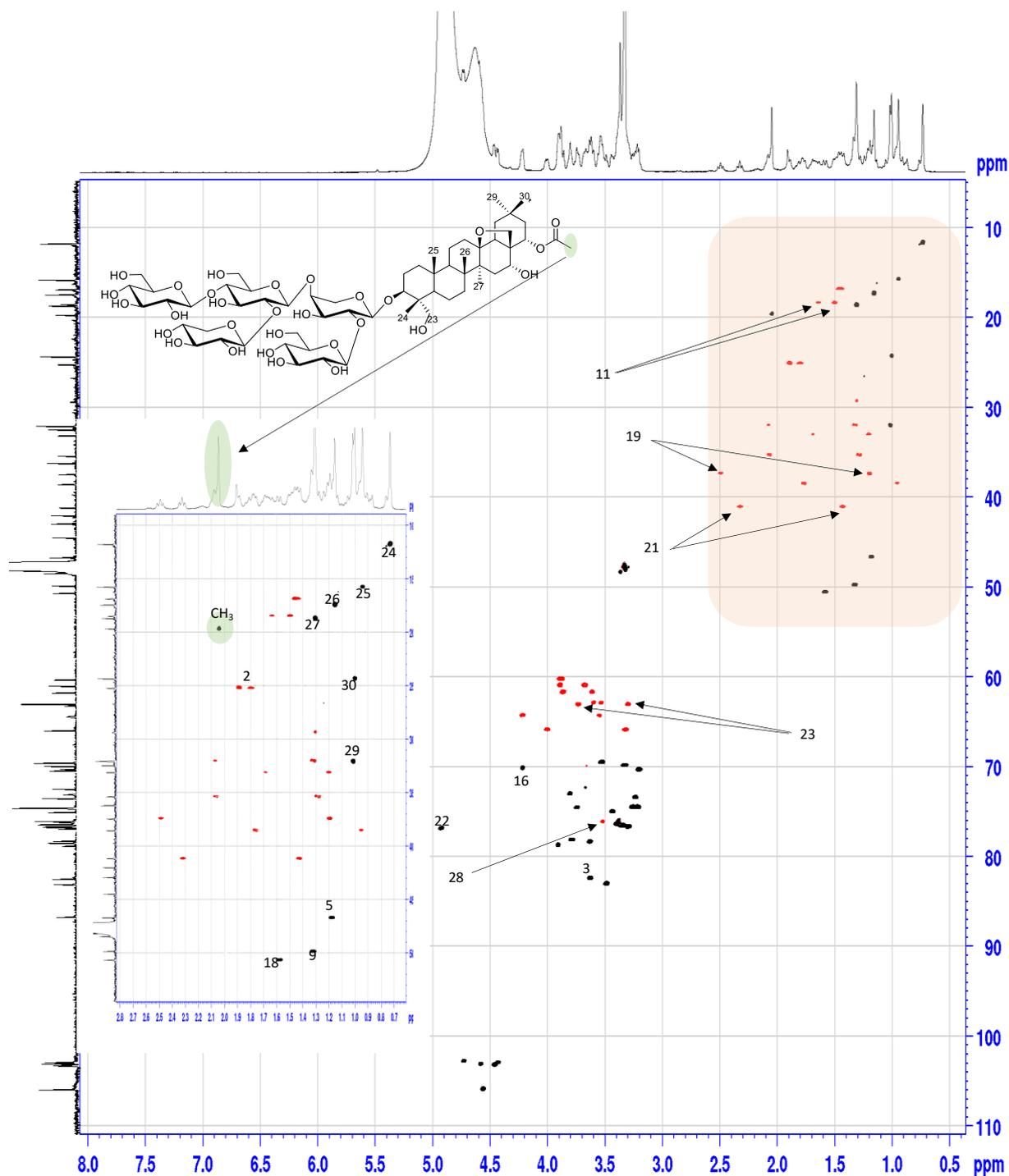


Figure 191 : Spectre HSQC du composé Am 19.

- Analyse de spectre HMBC du composé Am 19

Le signal du carbone à δ_C 171.5 ppm suggère la présence d'une fonction acétate, dont les corrélations HMBC observées avec le proton H-22 et le méthyle situé à δ_H 2.05 ppm respectivement, permettent de situer l'acétyle en position 22.

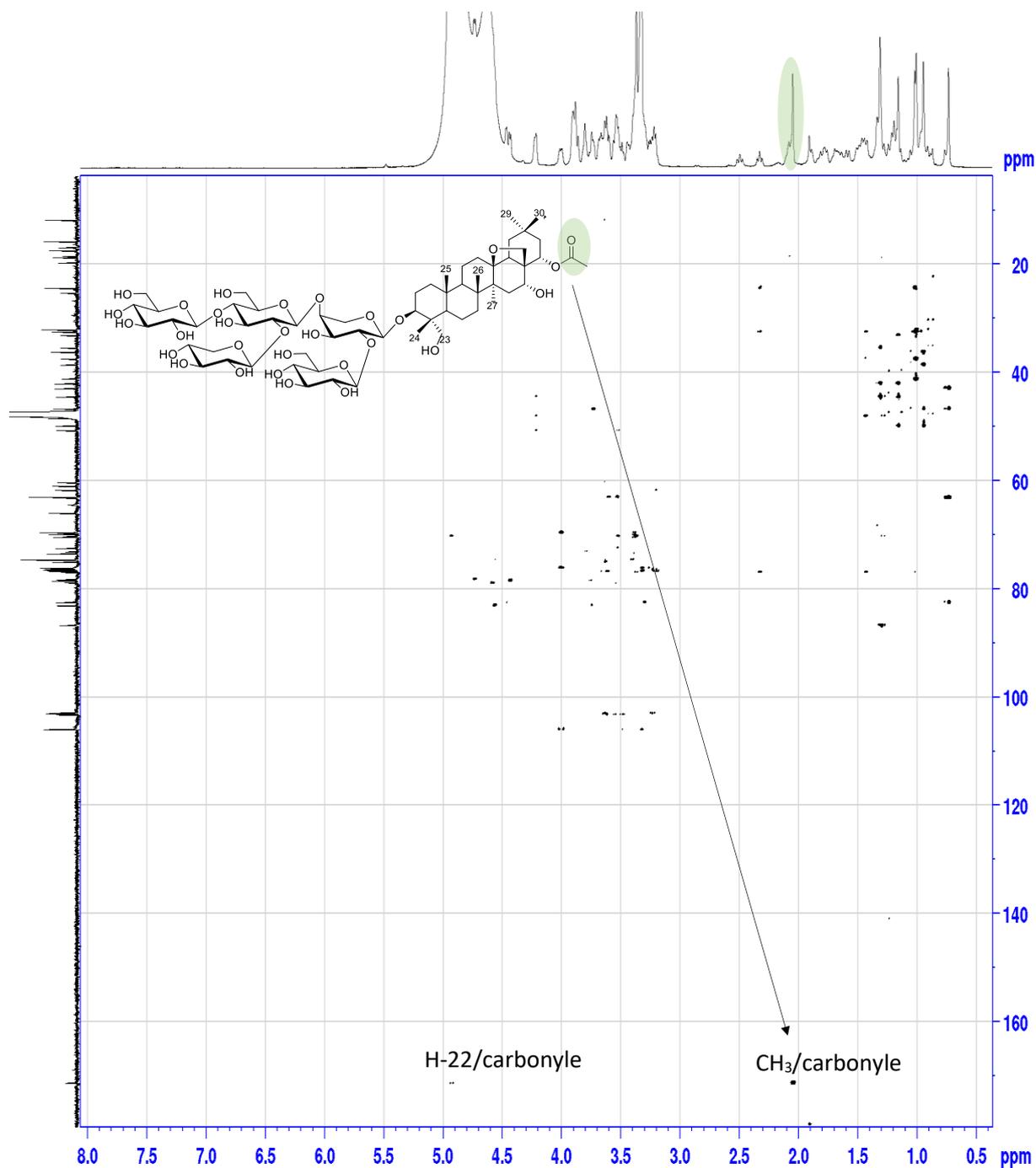


Figure 192 : Spectre HMBC du composé Am 19.

L'ensemble des informations précédemment citées par les analyses des spectres de RMN-1D et RMN-2D du composé **Am19** confirme qu'il s'agit d'une structure connue, est identifiée comme le 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- [β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)] - α -L-arabinopyranoside-22-acétyl-13,28- époxyoléanan 3 β ,16 α ,22 α ,23 α -tétraol, (**Anagallosaponin IX**) (Shoji et al., 1994a).

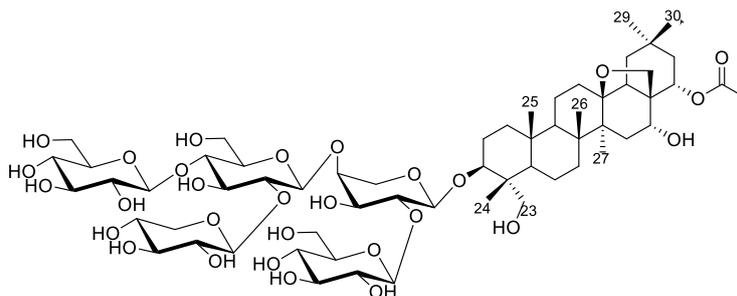


Tableau 41 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 19** dans CD_3OD

Position	19		Position	19	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.8	0.97 m 1.77 m	Ara		
2	25.8	1.76 m 1.87 m	1'	103.3	4.46 d (6.3)
3	90.0	3.16 dd (11.7, 4.3)	2'	78.3	3.79 m
4	39.2	–	3'	73.1	3.80 m
5	55.4	0.74 dd (11.5, 1.9)	4'	78.8	3.91 m
6	17.3	1.46 m 1.53 m	5'	64.4	3.55 dm (12.6) 4.22 dd (12.6, 2.9)
7	32.7	1.25 m 1.56 m	Glc I		
8	42.1	–	1''	102.9	4.73 d (7.7)
9	49.9	1.28 m	2''	74.6	3.24 t (9.4, 7.7)
10	36.4	–	3''	76.4	3.39 t (9.2)
11	18.5	1.49 m 1.64 m	4''	70.4	3.20 t (9.3)
12	32.1	1.31 m 2.06 m	5''	76.7	3.29 m
13	86.9	–	6''	61.7	3.62 dd (12.1, 6.7) 3.87 dd (12.1, 2.1)
14	44.5	–	Glc II		
			1'''	103.2	4.58 d (7.8)
			2'''	83.1	3.48 dd (9.0, 7.8)
			3'''	74.6	3.75 t (9.1)

Tableau 41 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 19** dans CD_3OD

15	35.5	1.27 m 2.08 dt (14.3, 5.5)	4'''	78.5	3.63 t (9.2)
16	70.2	4.22 br s	5'''	75.1	3.44 dt (9.6, 3.6)
17	48.1	–	Glc III		
18	50.7	1.59 dd (13.9, 1.6)	1''''	103.1	4.43 d (7.9)
19	37.6	1.20 m 2.49 dd (13.9, 12.5)	2''''	73.5	3.23 dd (9.0, 7.9)
20	32.5	–	3''''	76.4	3.37 t (9.0)
21	44.1	1.43 m 2.33 dd (11.9, 4.9)	4''''	69.9	3.32 m
			5''''	76.7	3.35 m
22	76.7	4.93 m	6''''	61.0	3.68 dd (11.7, 5.2) 3.89 dd (11.7, 1.9)
23	62.9	3.30 d (10.2) 3.74 d (10.2)	Xyl		
24	15.3	0.86 s	1'''''	106.0	4.56 d (7.5)
25	15.3	0.92 s	2'''''	74.6	3.26 dd (8.2, 7.5)
26	17.4	1.17 s	3'''''	76.1	3.37 m
27	18.7	1.28 s	4'''''	69.6	3.52 m
28	76,2	3.36 m 3.52 m	5'''''	66.0	3.32 m 4.00 dd (11.4, 5.2)
29	32.1	1.00 s			
30	24.3	0.96 s			
OAc	171.5	-			
CH ₃	19.5	2.05 s			

III.1.3.5. Détermination structurale des composés Am 20-Am 21

Les signaux des chaînes osidiques dans les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) des composés **Am 20** et **Am 21** sont similaires à ceux des composés **Am 1** et **Am 2** respectivement, alors que ceux des parties aglycones sont identiques et ne diffèrent de ceux de **Am 1** et **Am 2** que par la présence des signaux de l'hydroxyle en C-28 cette différence a été mis en évidence par les spectres COSY, HSQC et HMBC.

- Analyse des spectres de RMN ^1H des composés Am 20 et Am 21

L'analyse des spectres de RMN ^1H des composés **Am 20** (Figure 193) et **Am 21** (Figure 194) indiquent les mêmes signaux observés pour les composés **Am1** et **Am2** respectivement, sauf la présence d'un signal déblindé sous forme singulet à 4.79 ppm qui correspond au proton en position 28 dans les composés **Am 20** et **Am 21**.

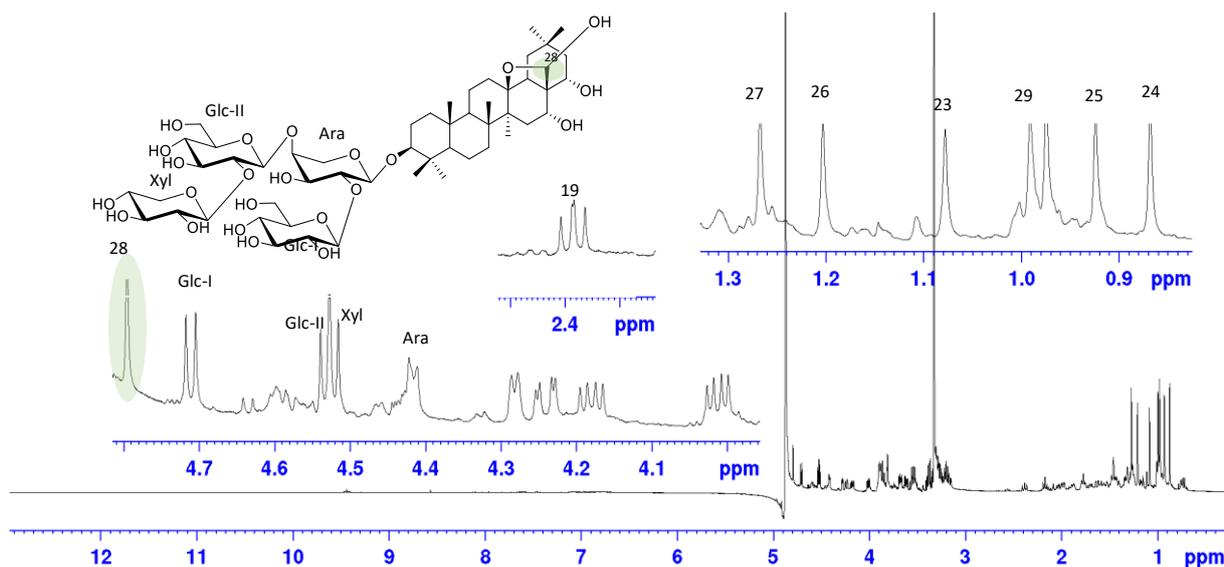


Figure 193 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 20**

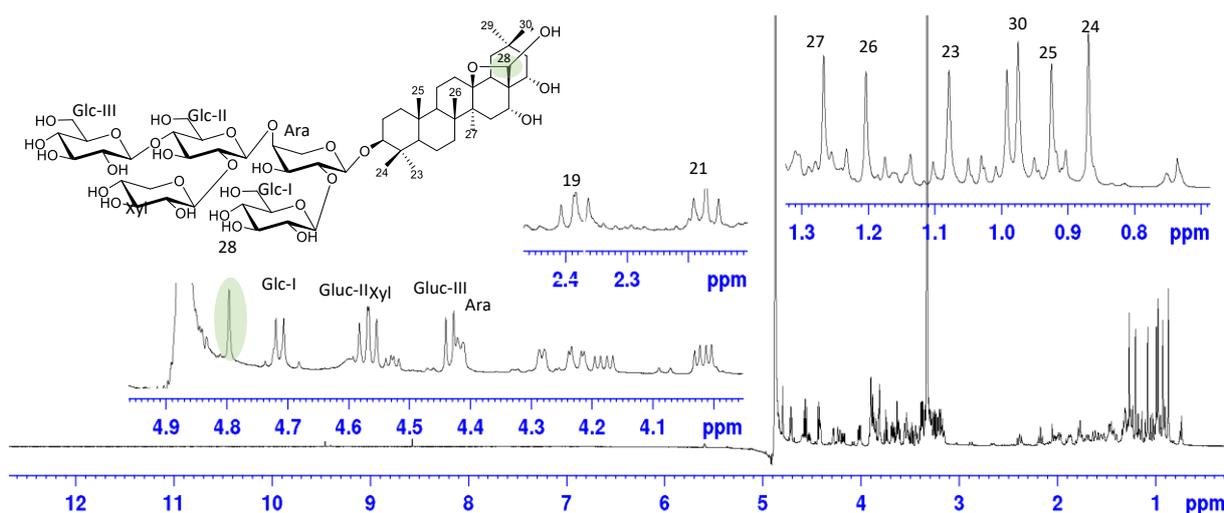


Figure 194 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 21**

- Analyse des spectres de RMN ^{13}C des composés **Am 20** et **Am 21**

Sur les spectres RMN ^{13}C des composés **Am 20** (Figure 195) et **Am 21** (Figure 196) on retrouve tous les signaux caractéristiques des composés **Am 1** et **Am 2** respectivement, à l'exception de l'apparition d'un signal correspondant au carbone oxygéné C-28 déblindé à δ_{C} 98.7 ppm dans les composés **Am 20** et **Am 21**.

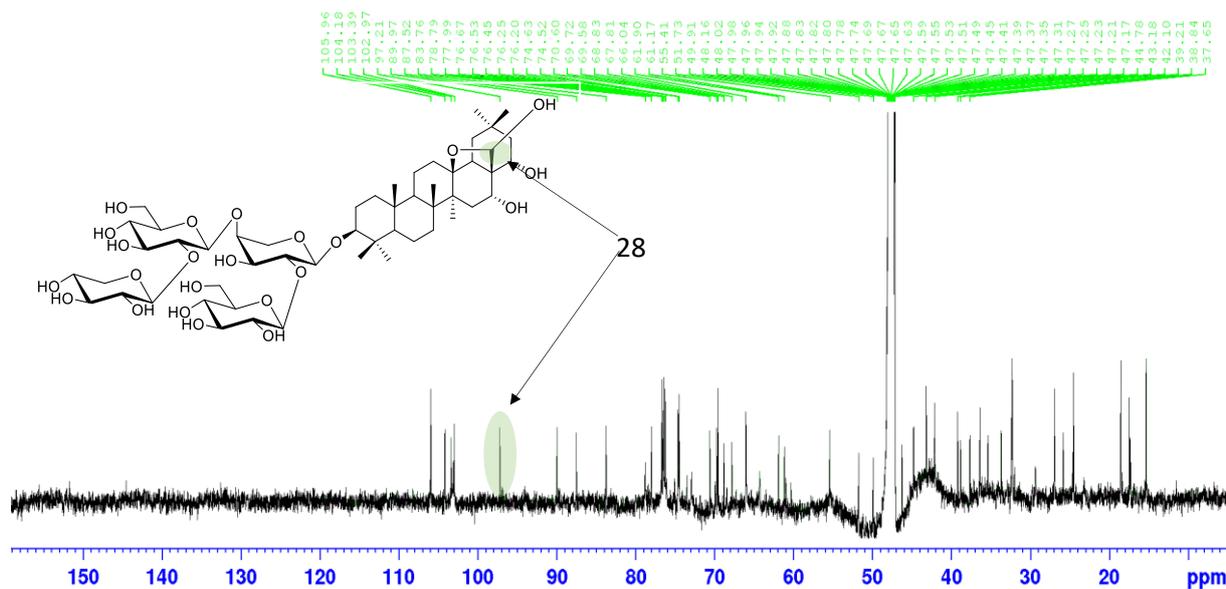


Figure 195 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 20**

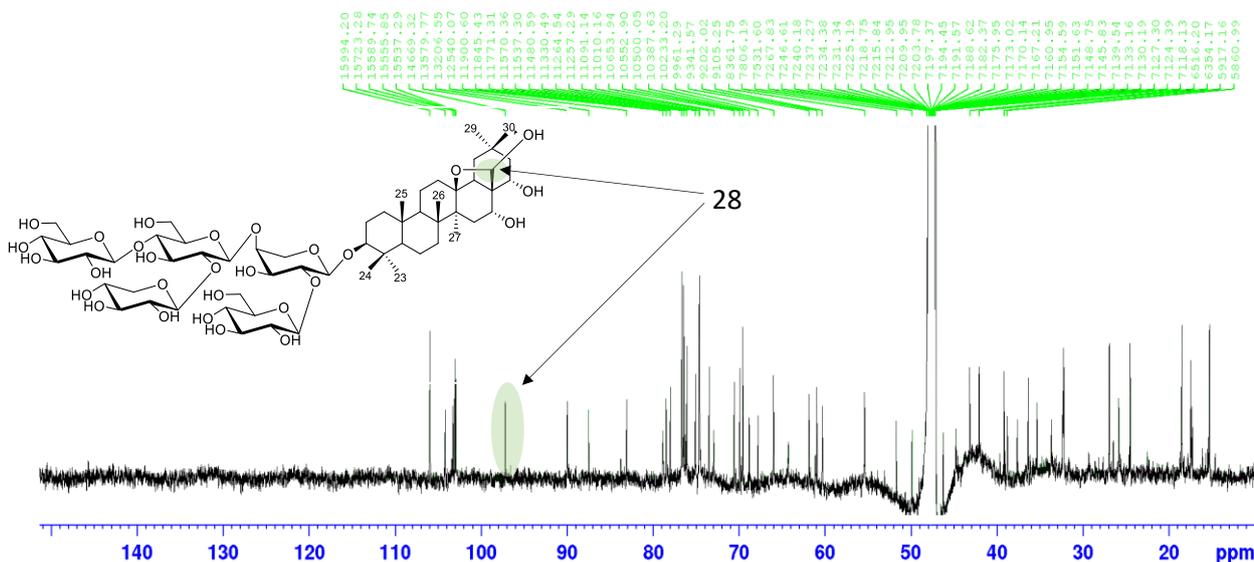


Figure 196 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am 21**

- Analyse des spectres COSY des composés **Am 20** et **Am 21**

Les spectres COSY des composés **Am 20** (Figure 197) et **Am 21** (Figure 198) montrent respectivement les mêmes corrélations que les composés **Am 1** et **Am 2** avec une seule différence qui est l'absence d'une corrélation liée aux protons géminés H-28. Ce qui confirme la présence du groupement OH à cette position dans **Am 20** et **Am 21**.

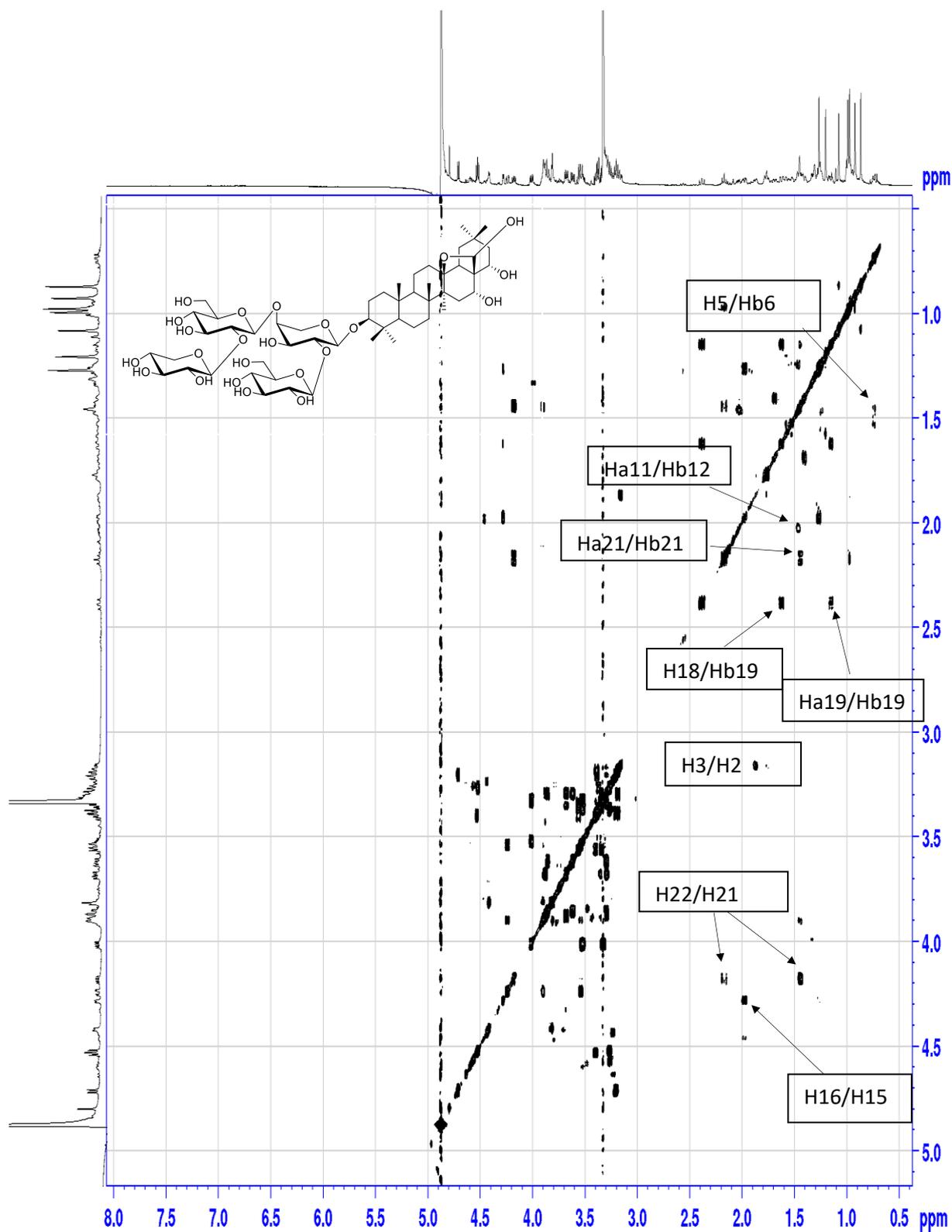


Figure 197 : Spectre de COSY du composé Am 20

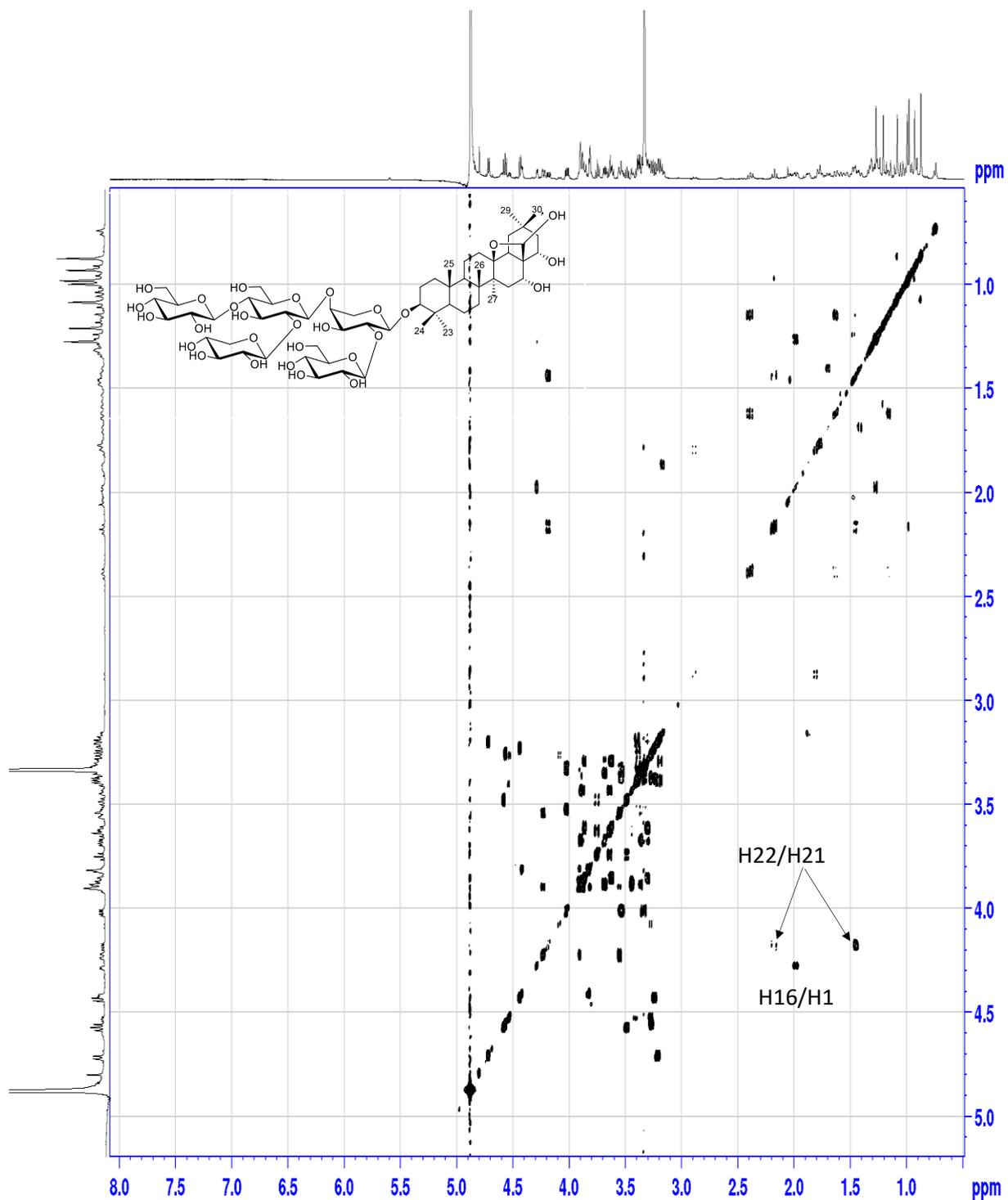


Figure 198 : Spectre de COSY du composé Am 21

- Analyse des spectres HSQC des composés Am 20 et Am 21

L'analyse des corrélations observées sur les spectres HSQC des composés **Am 20** (Figure 199) et **Am 21** (Figure 200) nous a permis d'attribuer les carbones à partir des protons correspondants identifiés grâce à l'analyse du spectre RMN-1D et COSY.

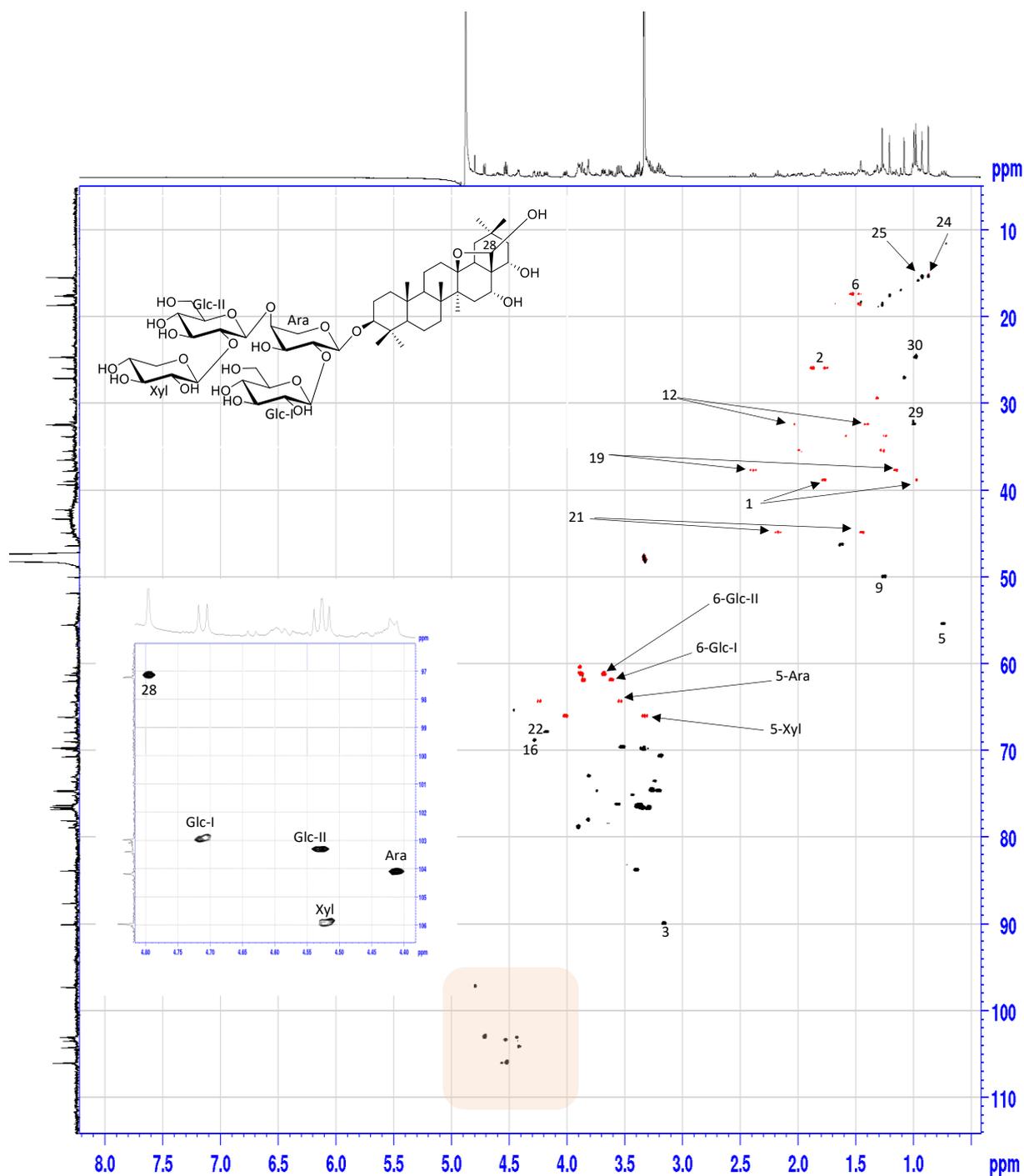


Figure 199 : Spectre HSQC du composé Am 20

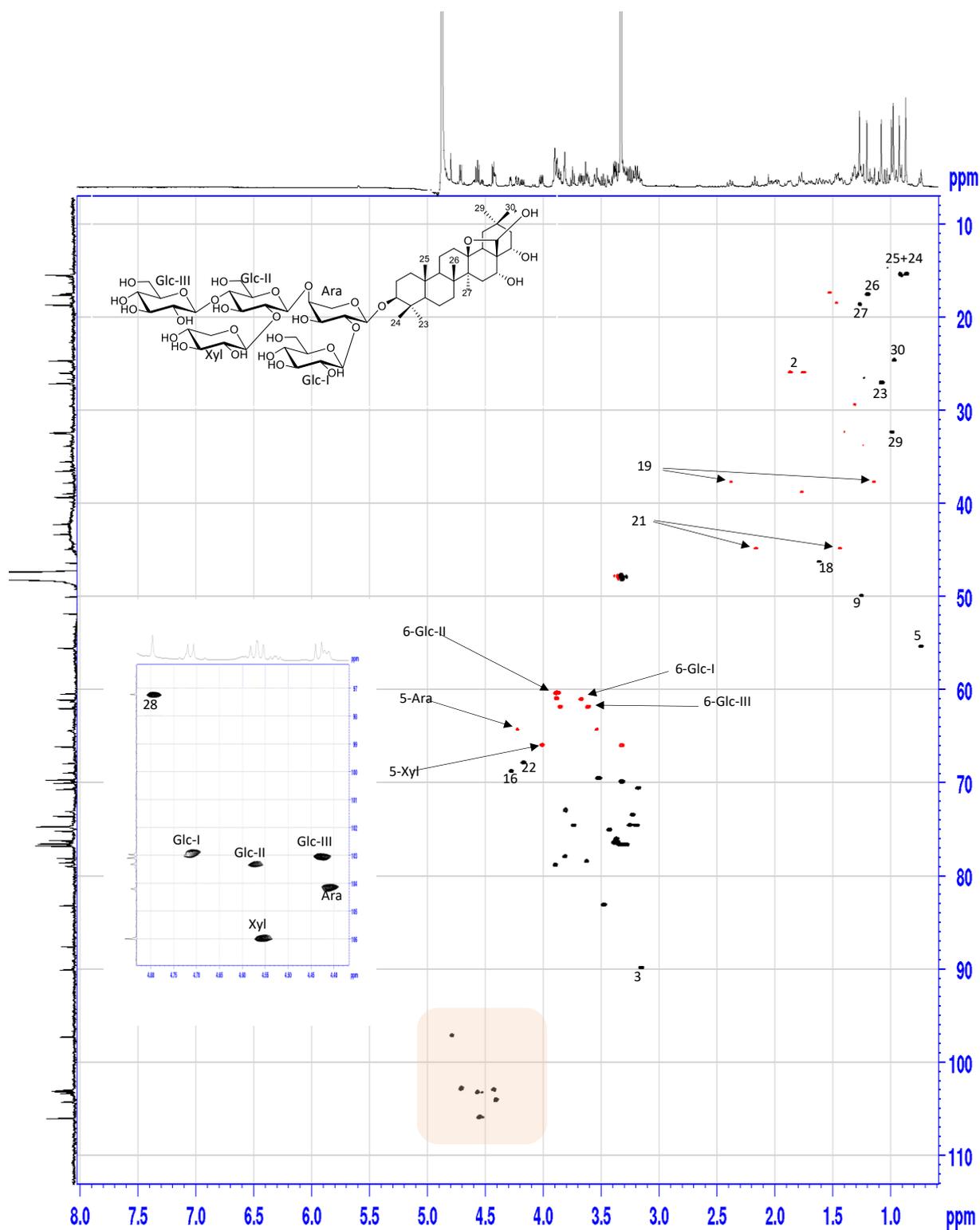


Figure 200 : Spectre HSQC du composé Am 21

- Analyse des spectres HMBC des composés Am 20 et Am 21

Les résultats obtenus à ce stade sont confirmés par l'analyse des corrélations observées sur les spectres HMBC **Am 20** (Figure 201) et **Am 21** (Figure 202).

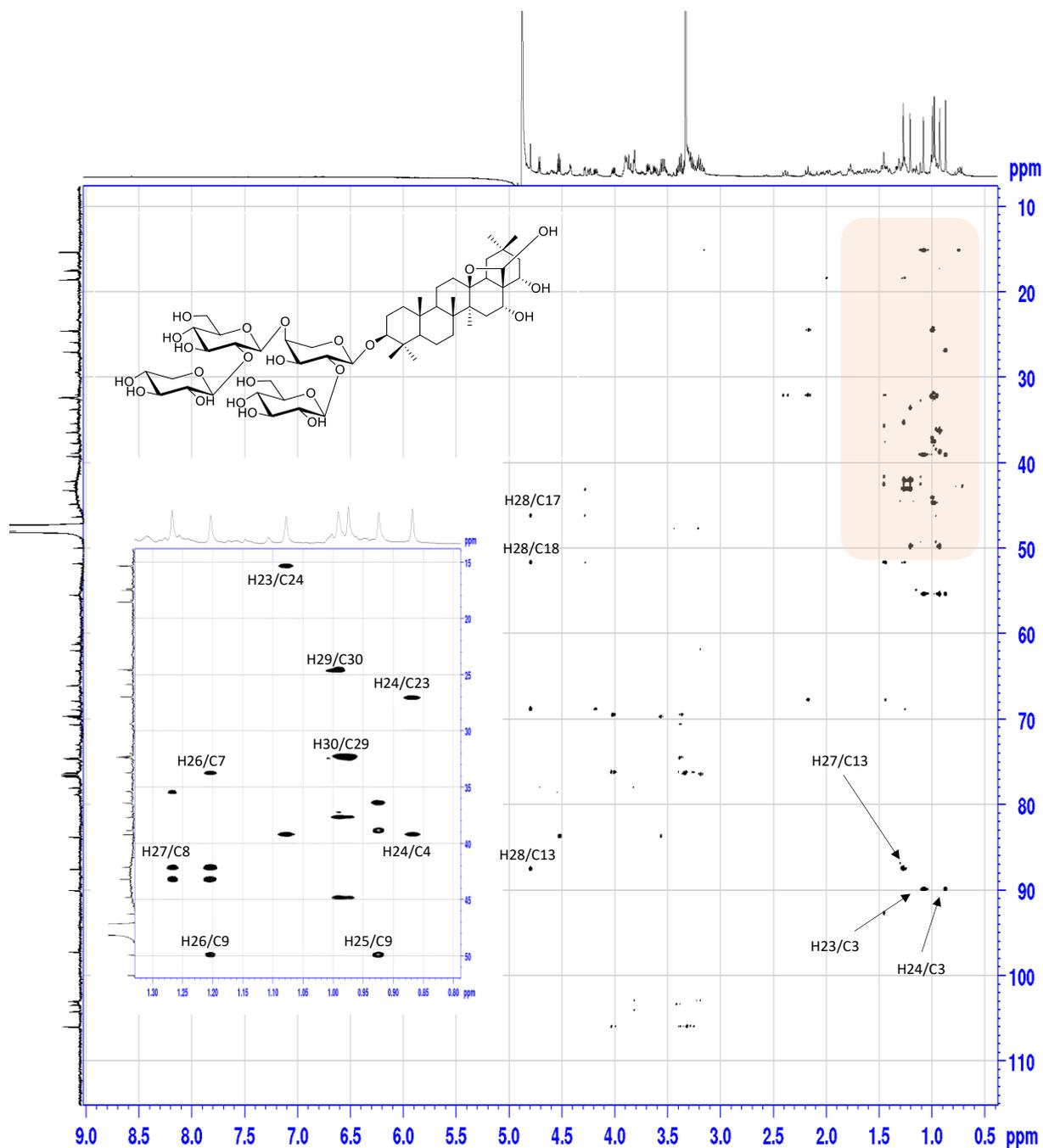


Figure 201 : Spectre HMBC du composé Am 20

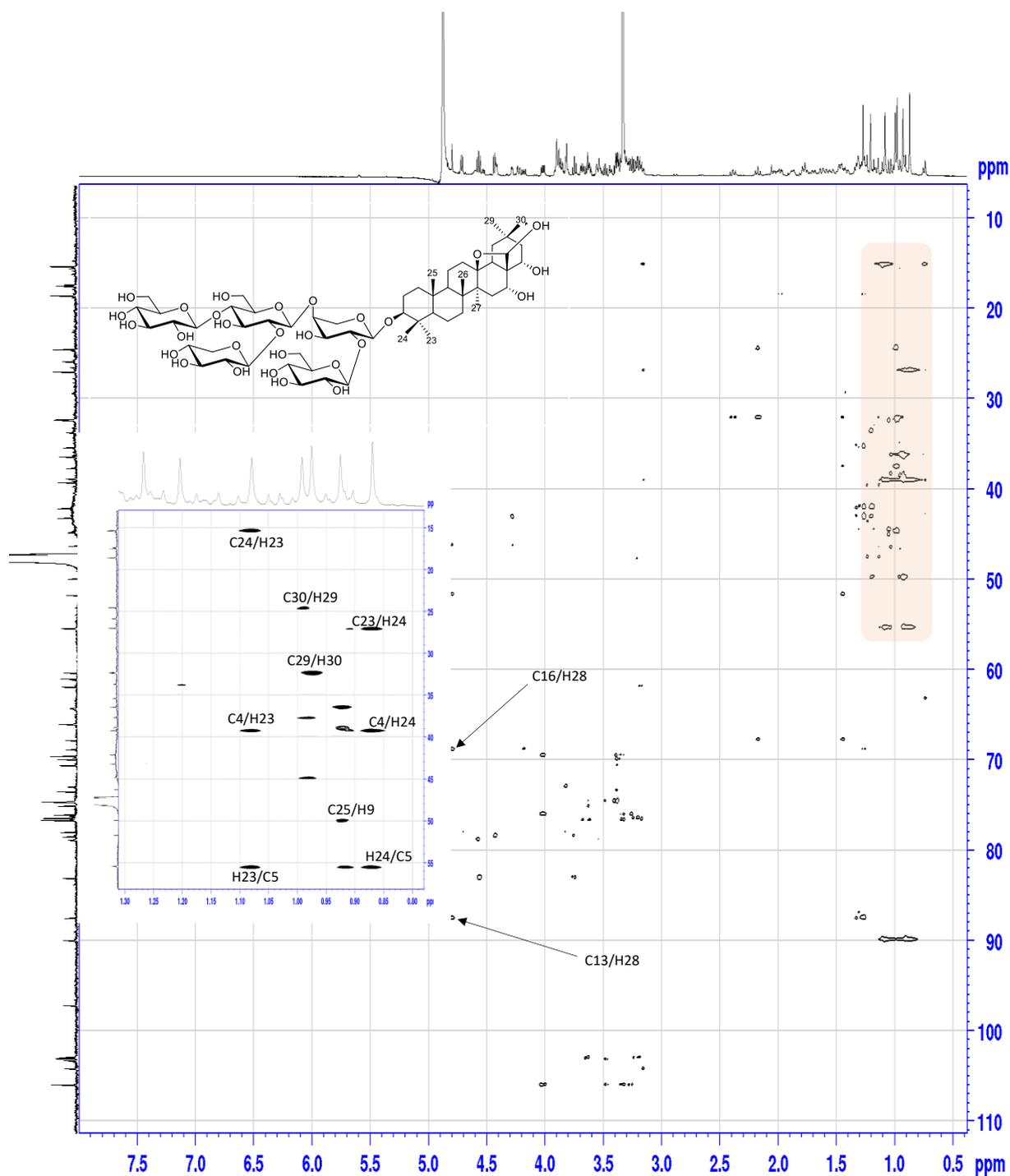


Figure 202 : Spectre HMBC du composé **Am 21**

L'analyse des spectres de RMN ^1H , ^{13}C J -modulé (Tableau 42-43), HSQC, COSY et HMBC des composés **Am 20** et **Am 21** sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature pour le **capilliposide A** et l'**Anagallosaponine II**, respectivement isolés de l'espèce *Lysimachia capillipes* (Tian et al., 2006) et *Anagallis arvensis* (Shoji et al., 1994^a).

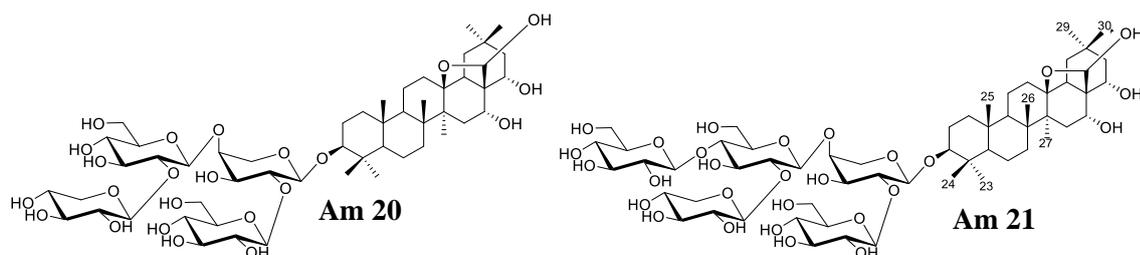


Tableau 42 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 20** dans CD_3OD

Position	20		Position	20	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	39.5	0.97 m 1.77 m	Ara		
		1.75 m	1'	103.7	4.43 d (6.8)
2	25.8	1.76 m 1.87 m	2'	79.9	3.73 dd (8.2, 6.8)
3	89.4	3.16 dd (11.7, 4.3)	3'	73.3	3.79 d (9.0)
4	39.9	–	4'	78.7	3.92 m
5	55.9	0.74 dd (11.3, 2.8)	5'	64.5	3.53 d (12.5) 4.19 dd (11.9, 5.4)
6	18.3	1.46 m 1.54 m	Glc I		
			1''	103.4	4.71 d (7.6)
7	34.7	1.25 m 1.56 m	2''	74.6	3.25 t (7.6)
			3''	76.4	3.41 t (9.0)
8	43.1	–	4''	69.8	3.35 t (9.5)
9	49.9	1.27 m	5''	73.8	3.46 m
10	37.4	–	6''	63.5	4.20 dd (11.5, 2.5) 4.34 dd (11.5, 1.98)
11	19.5	1.49 m 1.64 dd (12.7, 3.4)	Glc II		
12	33.1	1.31 m 2.06 m	1'''	103.2	4.56 d (7.2)
13	87.9	–	2'''	83.6	3.44 dd (9.0, 7.2)
14	44.5	–	3'''	76.2	3.56 t (9.0)
15	36.5	1.27 m 2.08 m	4'''	69.6	3.37 t (9.0)
			5'''	76.5	3.28 m
16	69.8	4.32 br s	6'''	61.1	3.68 dd (12.2, 5.4) 3.87 d (12.2, 2.2)
17	53.1	–	Glc III		
18	47.7	1.46 dd (12.5, 2.1)	1''''		
19	38.6	1.15 m 2.45 dd (13.9, 12.5)	2''''		
20	33.5	–	3''''		
21	46.7	1.39 m 2.19 t (11.7)	4''''		
			5''''		

Tableau 42 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 21** dans CD_3OD

22	68.2	3.72 m	6''''		
23	28.0	1.07 s	Xyl		
24	16.3	0.86 s	1''''''	105.9	4.55 d (6.8)
25	15.3	0.92 s	2''''''	74.5	3.27 dd (9.0, 6.8)
26	18.4	1.17 s	3''''''	76.3	3.36 t (9.0)
27	19.7	1.28 s	4''''''	69.5	3.52 m
28	98.7	4.79 s	5''''''	66.0	3.30 m 3.99 dd (11.5, 5.4)
29	34.3	1.00 s			-
30	26.6	0.96 s			

Tableau 43 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 21** dans CD_3OD

Position	21		Position	21	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	39.5	0.97 m	Ara		
		1.75 m	1'	104.2	4.42 d (6.3)
2	25.8	1.76 m 1.87 m	2'	78.0	3.82 m
3	89.4	3.16 dd (11.7, 4.3)	3'	72.9	3.81 m
4	39.9	–	4'	78.8	3.90 m
5	55.9	0.74 dd (11.3, 2.8)	5'	64.3	3.55 dd (12.5) 4.22 d (12.5)
6	18.3	1.46 m 1.54 m	Glc I		
			1''	103.1	3.71 d (8.3)
7	34.7	1.25 m	2''	73.5	3.24 t (8.9)
			3''	76.6	3.30 m
8	43.1	–	4''	69.9	3.32 m
9	49.9	1.27 m	5''	76.7	3.30 m
10	37.4	–	6''	61.0	3.68 dd (10.4, 2.6) 3.89 m
11	19.5	1.49 m 1.64 dd (12.7, 3.4)	Glc II		
12	33.1	1.31 m 2.06 m	1'''	103.3	4.57 d (8.8)
13	87.9	–	2'''	83.1	3.48 t (9.0)
14	44.5	–	3'''	74.7	3.75 t (9.0)
15	36.5	1.27 m 2.08 m	4'''	78.5	3.63 t (8.9)
			5'''	75.1	4.30 m
16	69.8	4.32 br s	6'''	60.3	3.89 m 3.88 m
17	53.1	–	Glc III		

Tableau 43 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 21** dans CD_3OD

18	47.7	1.46 dd (12.5, 2.1)	1''''	102.9	4.43 d (7.3)
19	38.6	1.15 m 2.45 dd (13.9, 12.5)	2''''	74.6	3.10 dd (8.9, 7.3)
20	33.5	–	3''''	76.4	3.39 m
21	46.7	1.39 m	4''''	70.6	3.18 t (8.9)
		2.19 t (11.7)	5''''	76.7	3.30 m
22	68.2	3.72 m	6''''	61.9	3.60 dd (11.0, 4.7) 3.86 d (11.0)
23	28.0	1.07 s	Xyl		
24	16.3	0.86 s	1'''''	105.9	4.56 d (7.8)
25	15.3	0.92 s	2'''''	74.6	3.26 t (7.8)
26	18.4	1.17 s	3'''''	76.1	3.37 m
27	19.7	1.28 s	4'''''	69.6	3.52 m
28	98,7	4.79 s	5'''''	66.0	3.32 m 4.01 dd (11.5, 5.7)
29	34.3	1.00 s			-
30	26.6	0.96 s			

III.1.3.6. Détermination structurale du composé Am 22

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé Am 22

Les spectres RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Am22** (Figures 203-204), ont révélé les mêmes signaux que ceux d'une part de la partie génine de **Am8**, et d'autre part de la partie osidique de **Am1**.

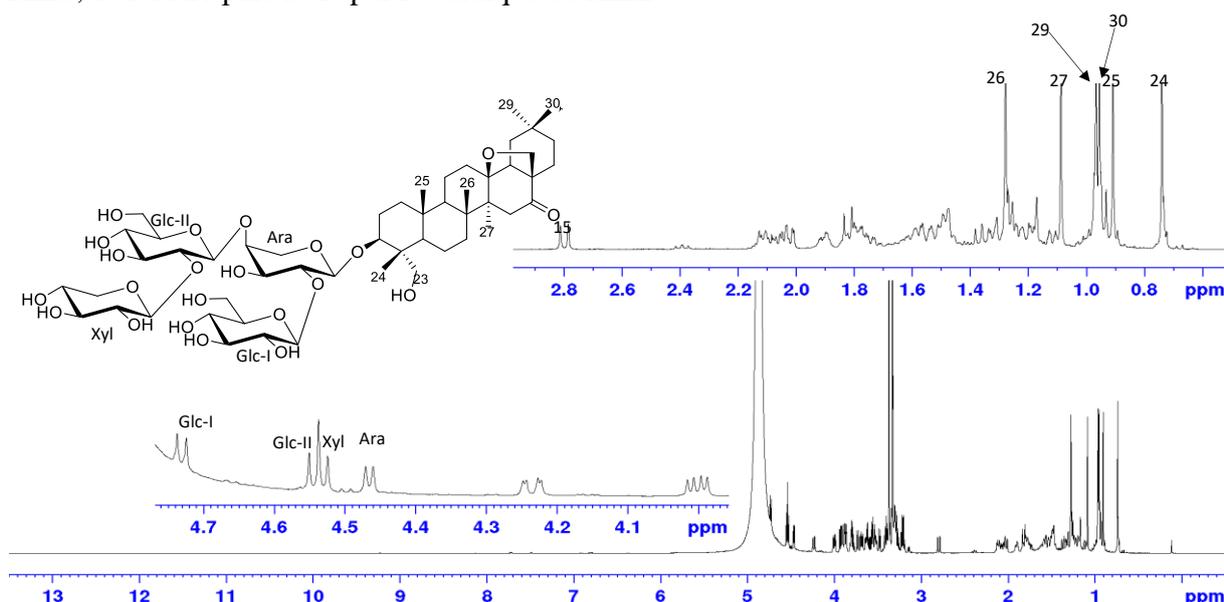


Figure 203 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomérique du composé **Am 22**

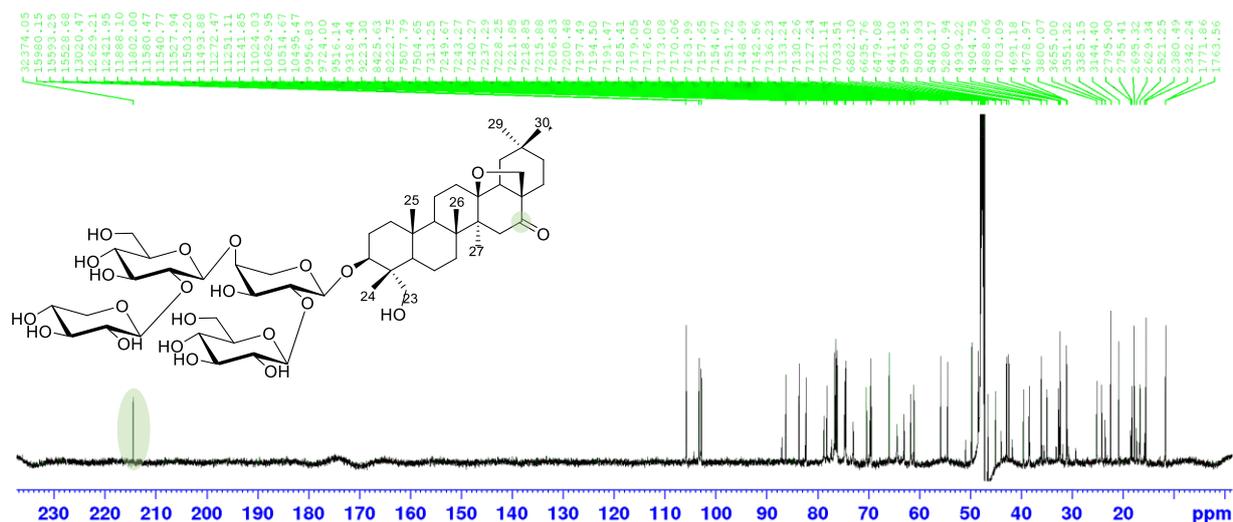


Figure 204 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 22.

- Analyse du spectre COSY du composé Am 22

Sur le spectre COSY (Figure 205), une corrélation est repérée entre les protons H-15 à 1.81 et 2.80 ppm (d, $J = 15.8$ Hz) déblindés par la présence de la cétone en C-15 comme dans Am8.

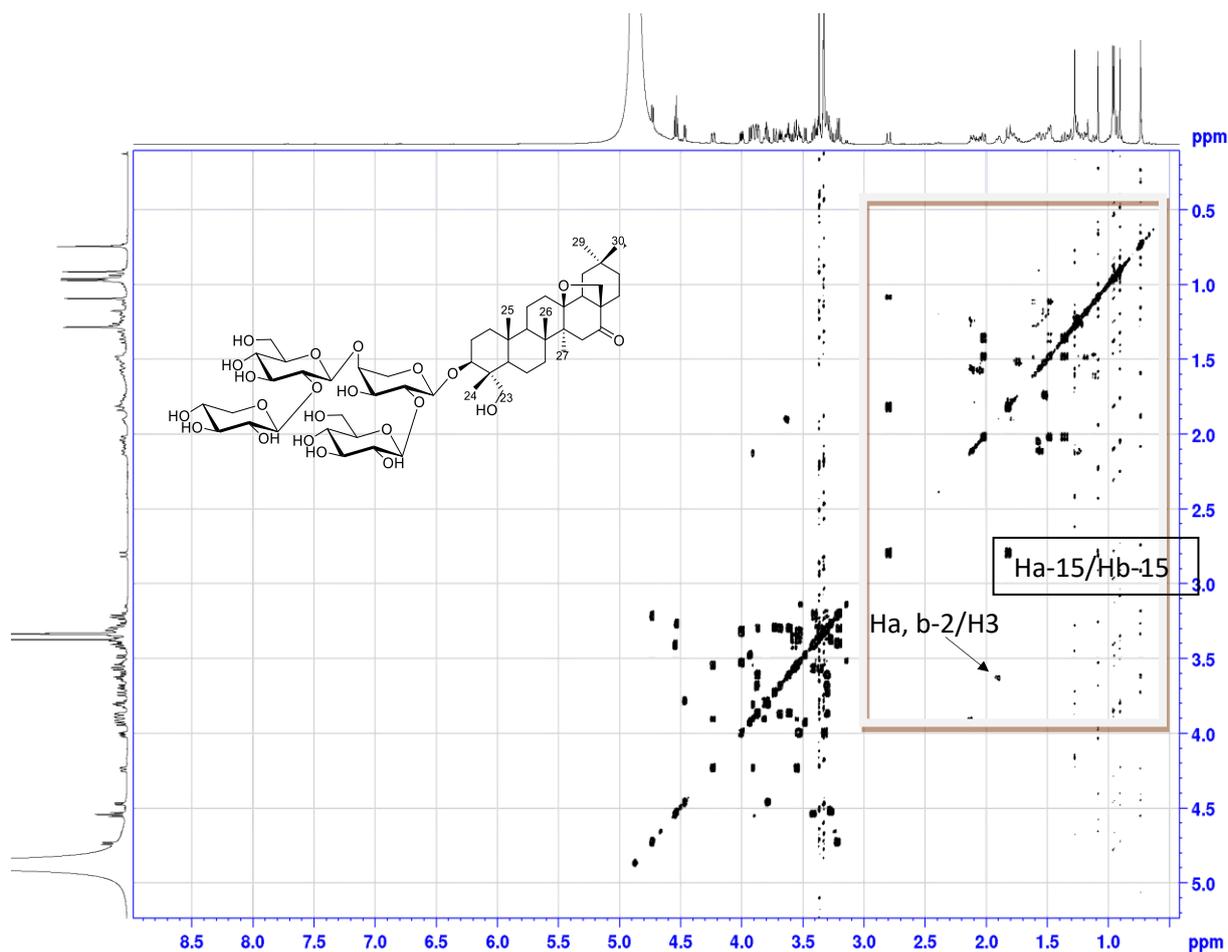
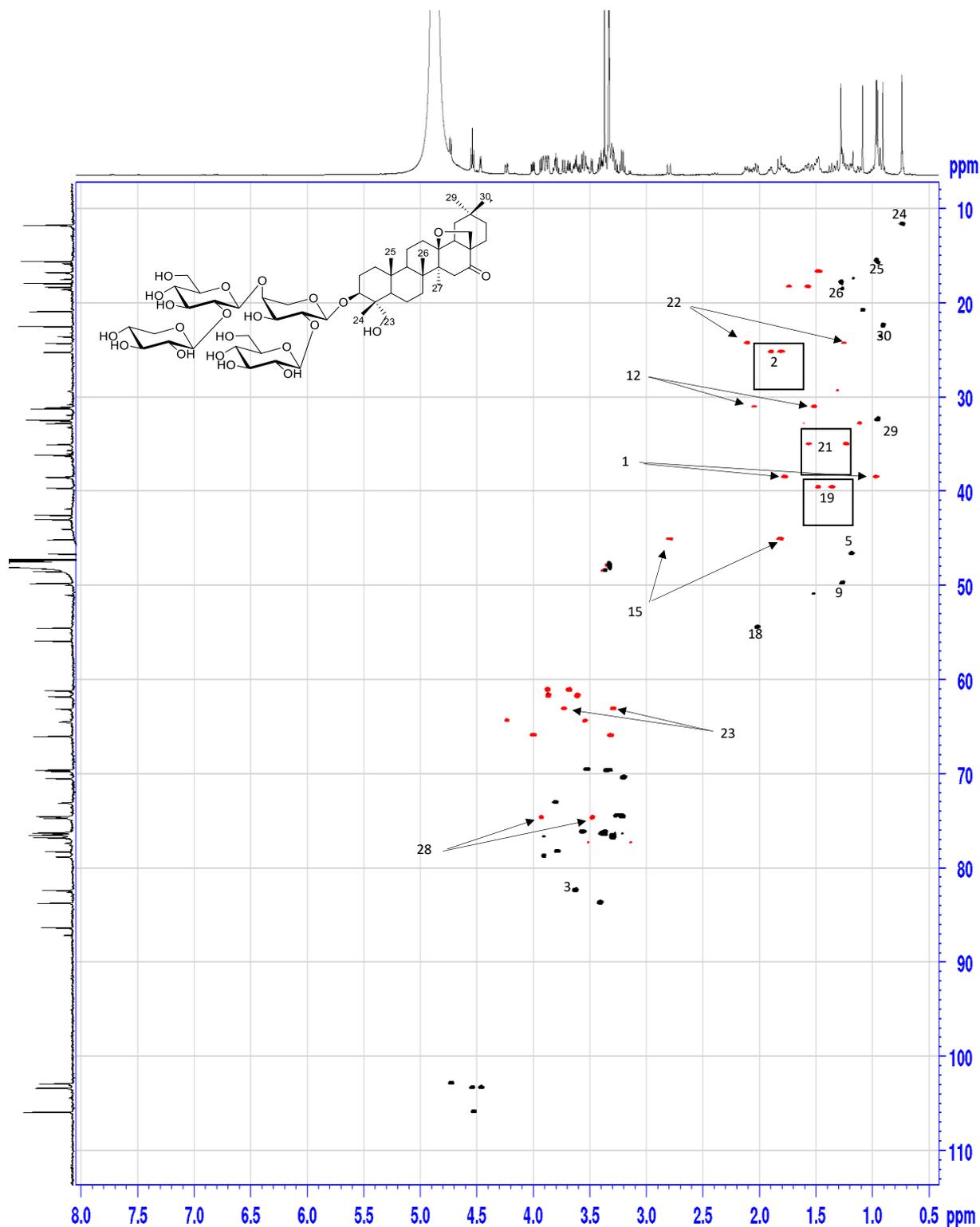


Figure 205 : Spectre de COSY du composé Am 22.

- Analyse du spectre HSQC du composé Am 22

L'analyse des corrélations observées sur le spectre HSQC nous a permis d'attribuer les carbones à partir des protons correspondants identifiés grâce à l'analyse des spectres RMN ^1H et COSY. Leurs déplacements chimiques sont listés dans le Tableau 44.

**Figure 206 : Spectre HSQC du composé Am 22**

- Analyse de spectre HMBC du composé Am 22

Les résultats de l'analyse du spectre HMBC (Figure 207) confirment la position du carbonyle en C-16 par les corrélations entre ce carbone à δ_C 214.3 ppm et les deux protons géminés Ha,b-15 d'une part et les protons H₂-28 du cycle pyranique d'autre part.

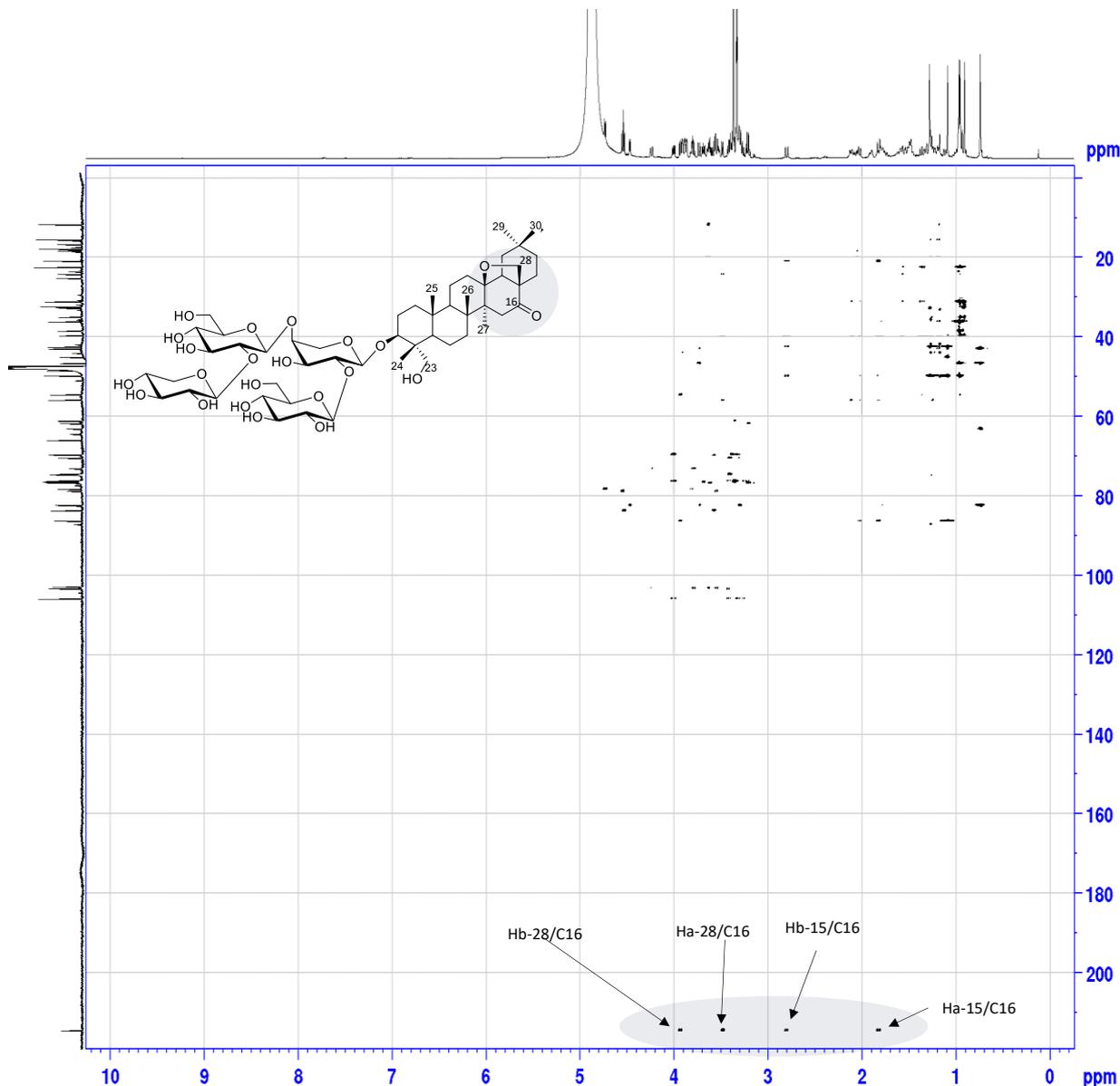


Figure 207 : Spectre HMBC du composé **Am 22**.

L'ensemble des informations obtenues par RMN-1D et RMN-2D (Tableau 44) puis la comparaison avec la littérature ont permis d'attribuer à ce composé le nom de la structure suivante 3-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-3 β ,23 α -dihydroxyoléanan-16-one (**Clethroidoside D**) (Liang et al., 2011).

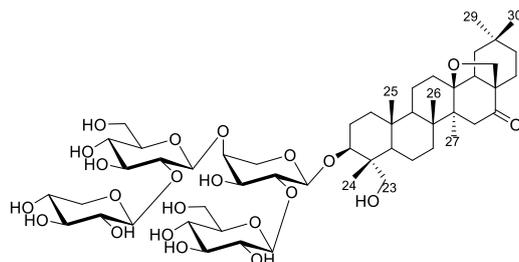


Tableau 44 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 22** dans CD_3OD

Position	22		Position	22	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	0.97 m	Ara		
		1.78 m	1'	104.2	4.41 d (6.6)
2	25.2	1.81 m	2'	78.0	3.82 m
		1.90 m			
3	82.3	3.63 d (8.9)	3'	72.9	3.81 m
4	42.9	–	4'	78.8	3.90 m
5	46.6	1.18 dd (10.2, 2.9)	5'	64.4	3.55 dm (12.6, 3.8) 4.23 dd (12.5, 2.8)
6	16.7	1.47 m	Glc I		
		1.49 m	1''	103.0	4.54 d (7.8)
7	32.7	1.11 dt (12.7, 3.2)	2''	74.6	3.21 dd (8.9, 7.7)
		1.62 m	3''	76.4	3.39 t (9.3)
8	42.5	–	4''	70.6	3.19 t (9.2)
9	49.8	1.26 m	5''	76.7	3.29 m
10	36.1	–	6''	61.9	3.62 dd (12.0, 6.7) 3.86 dd (12.0, 2.0)
11	18.3	1.57 m 1.74 m	Glc II		
12	31.1	1.51 m 2.05 m	1'''	103.4	4.54 d (7.8)
13	86.2	–	2'''	83.7	3.41 t (7.8)
14	49.7	–	3'''	76.2	3.57 t (8.9)
15	45.0	1.81 d (15.8)	4'''	69.7	3.35 m
		2.80 d (15.8)	5'''	76.7	3.34 m
16	214.3	–	6'''	61.2	3.69 dd (12.4, 6.2) 3.88 m
17	55.8	–	Glc III		
18	54.5	2.02 dd (12.1, 2.7)	1''''	103.1	4.43 d (7.9)
19	39.6	1.36 t (13.8)	2''''	73.5	3.23 dd (9.0, 7.9)
		1.48 m			
20	31.1	–	3''''	76.4	3.37 t (9.0)

Tableau 44 (suite) : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 22** dans CD_3OD

21	35.0	1.23 m	4''''	69.9	3.32 m
		1.57 m	5''''	76.7	3.35 m
22	24.2	1.25 m	6''''	61.0	3.68 dd (11.7, 5.2)
		2.11 d			3.89 dd (11.7, 1.9)
23	63.1	3.29 m 3.73 d (11.3)	Xyl		
24	11.7	0.74 s	1''''	105.9	4.53 d (7.6)
25	15.5	0.96 s	2''''	74.5	3.27 dd (8.7, 7.6)
26	17.8	1.28 s	3''''	76.5	3.39 m
27	20.8	1.08 s	4''''	69.6	3.54 m
28	74.7	3.48 d (8.4)	5''''	66.0	3.32 m
		3.93 d (8.4)			4.01 dd (11.3, 5.2)
29	32.4	0.95 s			
30	22.4	0.95 s			

III.1.3.7. Détermination structurale du composé **Am 23**

- Analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé **Am 23**

L'analyse du spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) (Figure 208) et de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) (Figure 209) de **Am 23** nous suggère la présence d'un squelette triterpénique avec quatre unités osidiques. Le composé **Am 23** ressemble au composé **Am 11**, la seule différence est le remplacement de la fonction aldéhyde par la fonction alcool en C-28.

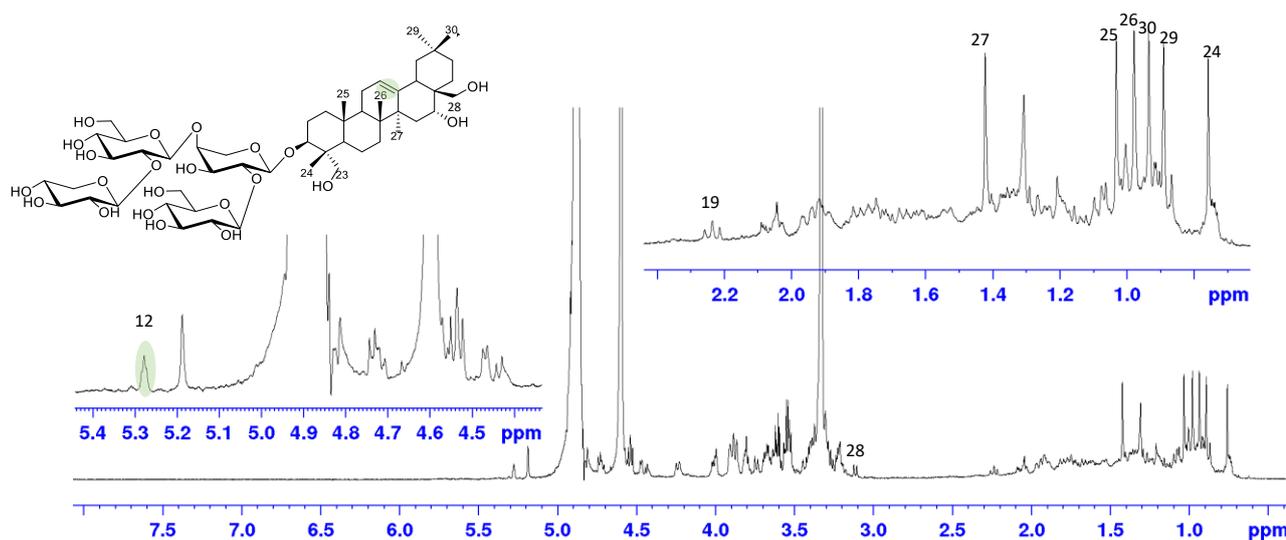


Figure 208 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) avec agrandissement de la zone des protons anomériques du composé **Am 23**

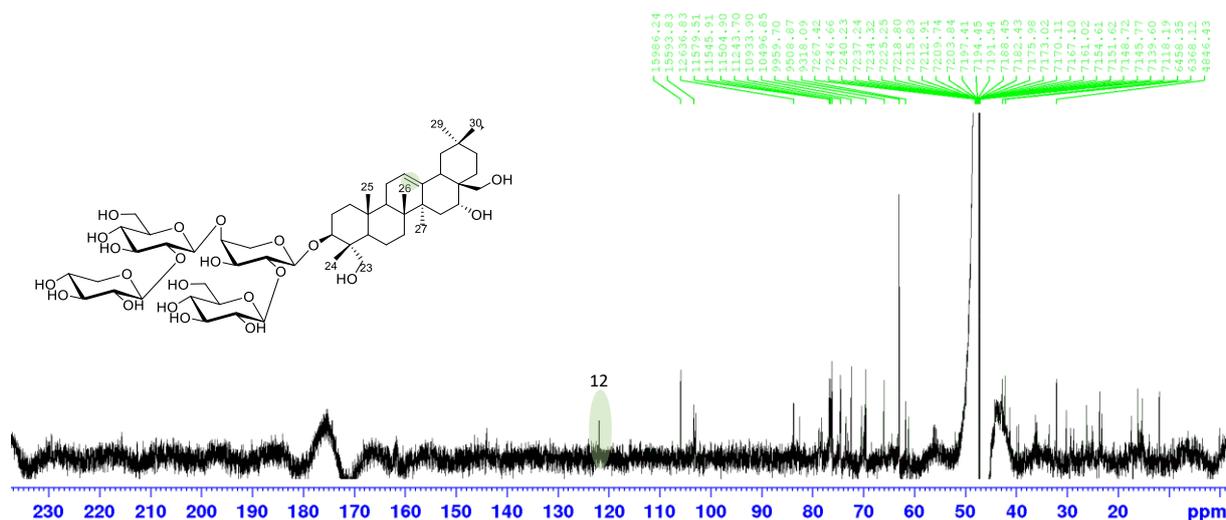


Figure 209 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé Am 23.

- Analyse du spectre COSY du composé Am 23

L'examen du spectre COSY (Figure 210) du composé Am 23 permet de visualiser les corrélations entre les protons aliphatiques des cinq noyaux. Ainsi, celles des cycles A, B, C, D et E sont identiques avec ceux du composé Am 11.

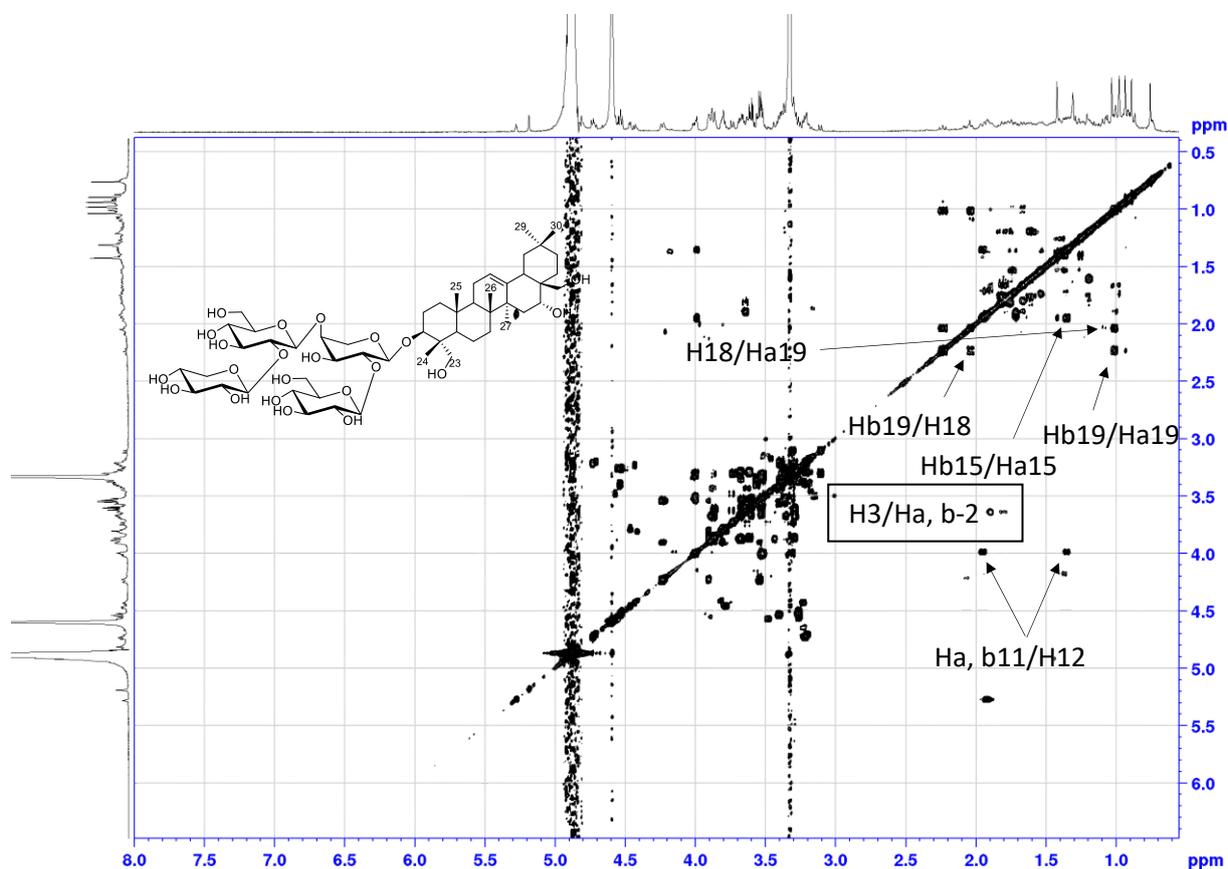
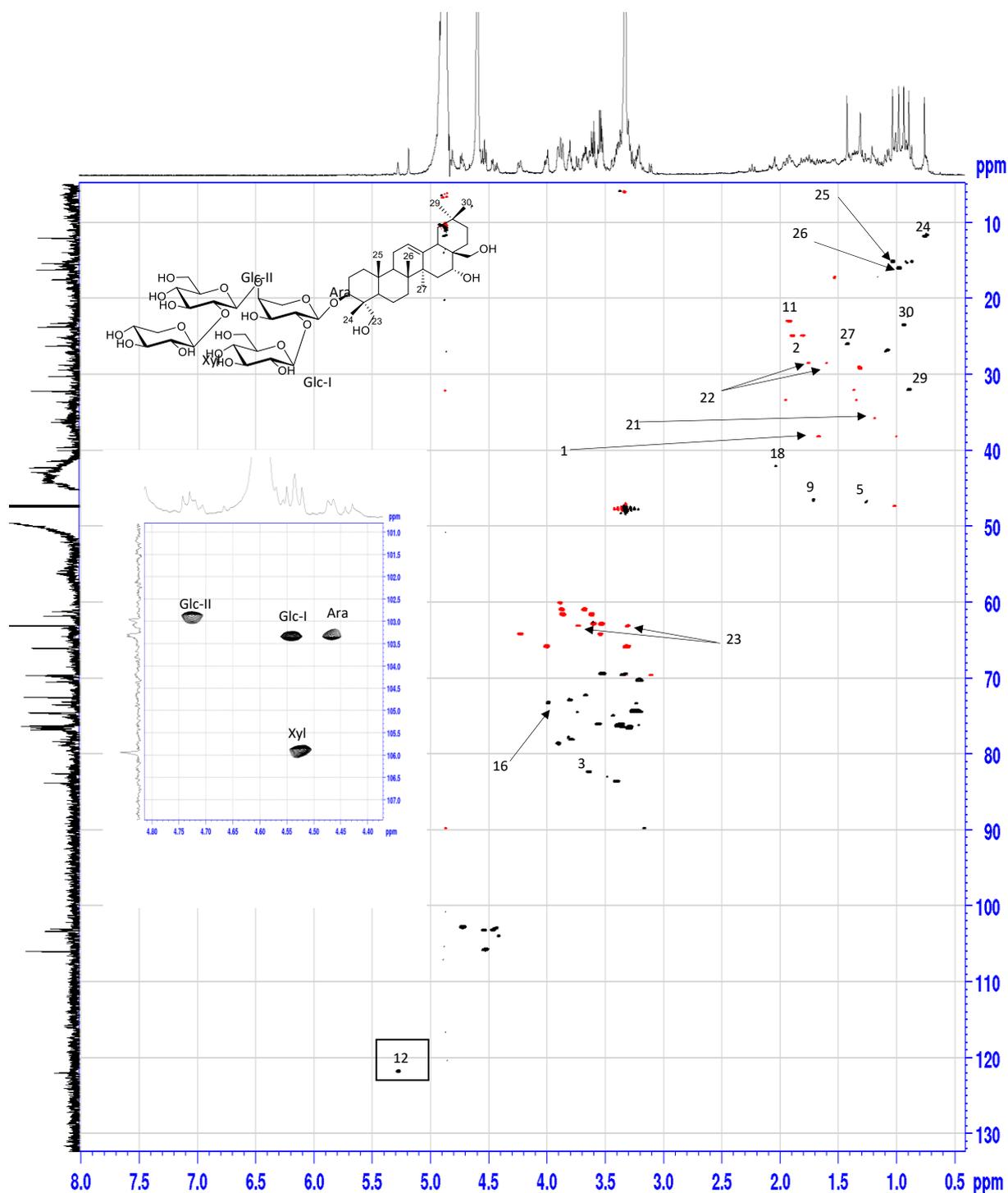


Figure 210 : Spectre de COSY du composé Am 23

- Analyse du spectre HSQC du composé Am 23

Sur le spectre HSQC de **Am 23** (Figure 211), nous pouvons visualiser les corrélations H-28/C-28 de la génine, en plus de ceux caractéristiques d'un squelette oléan-12ène dihydroxylé en positions 16 et 23 comme dans les composés **Am 11** à **Am 13**.

**Figure 211 : Spectre HSQC du composé Am 23**

La comparaison de l'ensemble des données de la RMN (Tableau 45) avec celles de la littérature (Huang et al., 2009) permet d'identifier **Am 23** au :

3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-oléan-12-èn-3β,16α,23α,28-tétraol, ou **Hétérogénosides D**.

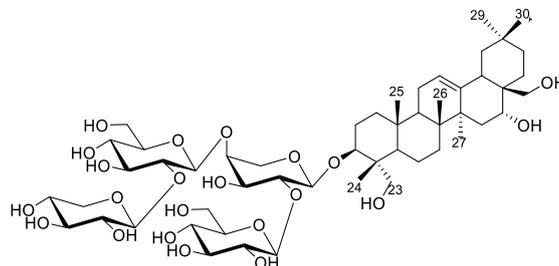


Tableau 45 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 23** dans CD_3OD

Position	23		Position	23	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	38.5	1.00 m	Ara		
		1.67 dt (13.1, 3.0)	1'	104.2	4.41 d (6.6)
2	25.2	1.81 m 1.90 m	2'	78.0	3.82 m
3	82.5	3.63 d (8.9)	3'	72.9	3.81 m
4	42.9	–	4'	78.8	3.90 m
5	46.9	1.26 d (11.1)	5'	64.4	3.55 dd (12.5, 3.8) 4.23 dd (12.5, 2.8)
6	17.4	1.41 m 1.53 m	Glc I		
			1''	103.0	4.71 d (7.7)
7	32.1	11,36 d (12.5) 1.74 m	2''	74.6	3.21 dd (8.9, 7.7)
			3''	76.4	3.39 t (9.3)
8	39.5	–	4''	70.6	3.19 t (9.2)
9	46.7	1.71 dd (10.8, 6.6)	5''	76.7	3.29 m
10	36.2	–	6''	61.9	3.62 dd (12.0, 6.7) 3.86 dd (12.0, 2.0)
11	23.2	1.91 m 1.93 m	Glc II		
12	121.9	5.23 t (3.6)	1'''	103.4	4.54 d (7.8)
13	144.0	–	2'''	83.7	3.41 t (7.8)
14	41.3	–	3'''	76.2	3.57 t (8.9)
15	33.6	1.35 dd (15.5, 3.9) 1.94 t (15.5, 4.2)	4'''	69.7	3.35 m
			5'''	76.7	3.34 m
16	73.4	–	6'''	61.2	3.69 dd (12.4, 6.2) 3.88 d (12.4)
17	49.4	–	Glc III		
18	42.2	2.04 m	1''''		

Tableau 45 (suite): Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 23** dans CD_3OD

19	47.4	1.01 dn (13.4) 2.24 t (13.4)	2''''		
20	30.2	–	3''''		
21	35.9	1.19 m 1.82 td (12.5, 5.1)	4''''		
			5''''		
22	28.7	1.74 m 2.11 d (11.7)	6''''		
23	63.3	3.31 m 3.73 d (10.8)	Xyl		
24	11.9	0.76 s	1''''''	105.9	4.53 d (7.6)
25	15.3	1.03 s	2''''''	74.5	3.27 dd (8.7, 7.6)
26	16.1	0.98 s	3''''''	76.5	3.39 m
27	26.1	1.42 s	4''''''	69.6	3.54 m
28	69,8	3.11 d (11.2) 3.31 m	5''''''	66.0	3.32 m
					4.01 dd (11.3, 5.2)
29	32.1	0.89 s			
30	23.6	0.93 s			

III.1.4. Conclusion

L'étude phytochimique portée sur l'espèce d'origine algérienne *Anagallis monelli* ssp. *Linifolia* L. a mené à l'isolement et l'élucidation structurale de vingt-trois saponines (Am 1-23) à partir de l'extrait butanolique issu de l'extraction hydrométhanolique. La caractérisation de ces produits a été réalisée par des analyses spectrales basées essentiellement sur les données RMN mono et bidimensionnelles (^1H , ^{13}C , COSY, ROESY, TOCSY, HSQC et HMBC), de spectrométrie de masse (HR-ESI-MS), et sur la comparaison avec les données de la littérature. Il s'agit de saponines monodesmosides dont 13 ont de nouvelles structures et possédant un squelette Priverogénine B (Am 1-2) (Semipapposide A-H), Protoprimulagénine A (Am 14-15), Anagalligénine B (Am 3-7 et Am 16-17), Anagalligénone B (Am 8-9 et Am 22) et hédéragénoaldéhyde (Am 10-13).

Toutes les saponines présentent une chaîne glucidique liée au C-3 de l'aglycone avec une séquence commune Glc-II-(1 → 4)-ara- qui est ensuite glycosylée par Glc-I et/ou ara. Dans 22 des 23 saponines isolées, l'unité arabinose est substituée en son C-2' par une autre unité de glucose (Glc-I) pour donner le motif motif Glc-II-(1 → 4)-[Glc-I-(1 → 2)]-ara-. Dans tous les saponines possédant le noyau oléanane ponté, à l'exception du composé Am 9, une unité xylose est liée au C-2'' du Glc-II, ce qui donne la séquence tétraosidique : xyl-(1 → 2)-Glc-II-(1 → 4)-[Glc-I-(1 → 2)]-ara-, et cette séquence a également été trouvée dans trois (Am 10, Am 11,

Am 23) des cinq composés présentant une ouverture de cycle du squelette 13,28-époxy-oléanane. Environ la moitié des composés isolés de *A. monelli* ssp. *linifolia* sont substitués en C-4'' du Glc-II par une troisième unité de glucose pour donner la séquence pentaosidique : Glc-III-(1 → 4)-[xyl-(1 → 2)-Glc-II-(1 → 4)-]Glc-I-(1 → 2)-]ara-, qui a été rencontrée dans les saponines isolées de *A. arvensis* (Glombitza et Kurth 1987b). De même, les séquences des composés Am 9, Am 12 et Am 13, ont été précédemment rencontrés dans des saponines isolées de *A. arvensis* (Shoji et al., 1994a ; Mahato et al., 1991).

Ces travaux ont été publiés dans *Phytochemistry* 202 (2022) 113305.

<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113305>

Chapitre 2 :
Identification des produits isolés de
Arenaria cerastioides Poir.

III.2.1. Étude chimique d'*Arenaria cerastioides* Poir.

La plante entière d'*Arenaria cerastioides* en état de poudre sèche (1000 g) a été extraite par une solution hydroalcoolique à 70% MeOH (3× 24h). L'extrait brut obtenu après évaporation (100g) a subi une extraction liquide-liquide par des solvants à polarité croissante (Chloroforme ; Acétate d'éthyle ; *n*-butanol). L'extrait *n*-butanol obtenu était de 15g après l'évaporation à sec (Figure 212).

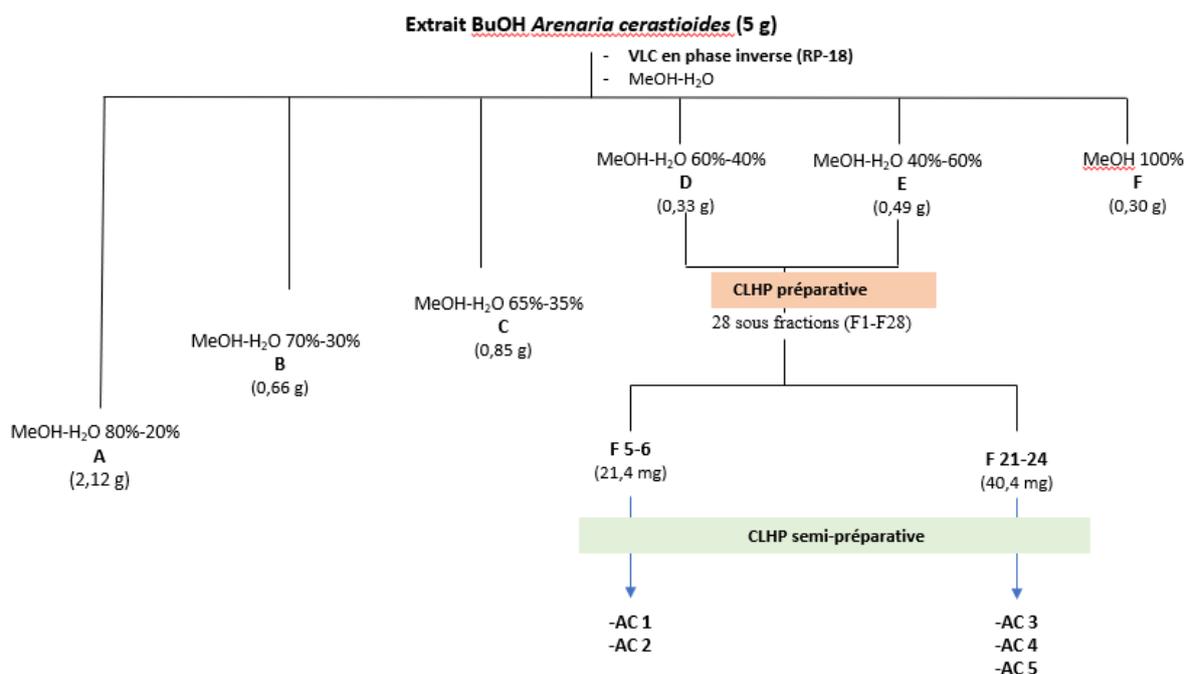


Figure 212 : Schéma d'extraction et de purification des composés d'*Arenaria cerastioides*.

III.2.2. Détermination structurale des flavonoïdes d'*Arenaria cerastioides*

Trois flavonoïdes (**Ac1-3**) ont été isolés à partir de la fraction butanolique issue de l'extraction hydrométhanolique d'*Arenaria cerastioides*. Tous les flavonoïdes identifiés par les méthodes spectroscopiques sont connus.

Nature des composés Ac1- Ac3

Après l'observation des spectres RMN 1D (¹H et ¹³C) et la comparaison avec les données de la littérature, les métabolites secondaires d'*Arenaria cerastioides* ont été identifiés comme des flavonoïdes.

- Analyse du spectre COSY du composé Ac 1

Trois signaux sont caractérisés par analyse du spectre COSY (Figure 215) pour la génine :

- Deux protons sous forme de doublets qui couplent (AX) entre eux en position méta ($J = 2.1$ Hz) avec un déplacement chimique δ_H 6.21 ppm (H-6) et 6.41 ppm (H-8).
- Un proton sous forme de doublet à δ_H 5.90 ppm (H-5') ($J = 8.5$ Hz) fait un couplage ortho avec H-6' à δ_H 7.80 ppm.
- Un doublet de doublets à δ_H 7.80 ppm (H-6' ; $J = 8.5, 2.2$ Hz) fait un couplage en position ortho avec H-5' à δ_H 5.90 ppm et un couplage en méta avec H-2' à δ_H 7.85 ppm.

Toutes les corrélations présentées dans la partie osidique indiquent la structure du galactose.

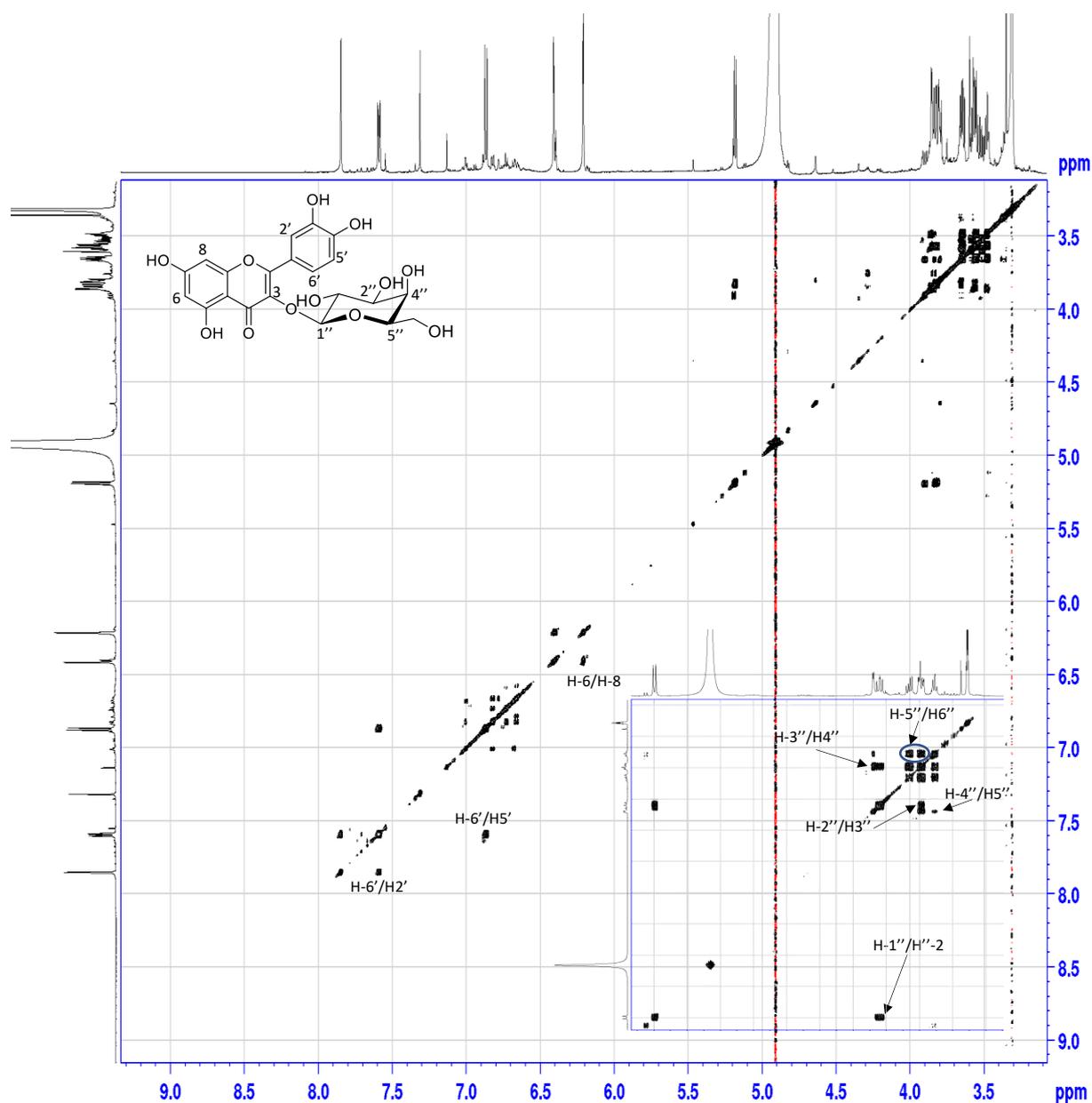


Figure 215 : Spectre COSY du composé Ac 1

- Analyse du spectre HSQC du composé Ac 1

L'analyse du spectre HSQC *J*-modulé (Figure 216) de cette molécule, nous a conduit à identifier tous les carbones à partir des protons de la partie osidique et de l'aglycone (Tableau 46). C-2'' résonne à δ_c 73.1 ppm, C-3'' résonne à δ_c 75.0 ppm, C-4'' résonne à δ_c 70.1 ppm, C-5'' résonne à δ_c 77.2 ppm, H-6a'' résonne à δ_H 3.61 (multiplet) et H-6b'' résonne à δ_H 3.65 (dd, 11.2, 6.0 Hz) corrélent avec C-6'' à δ_c 61.9 ppm.

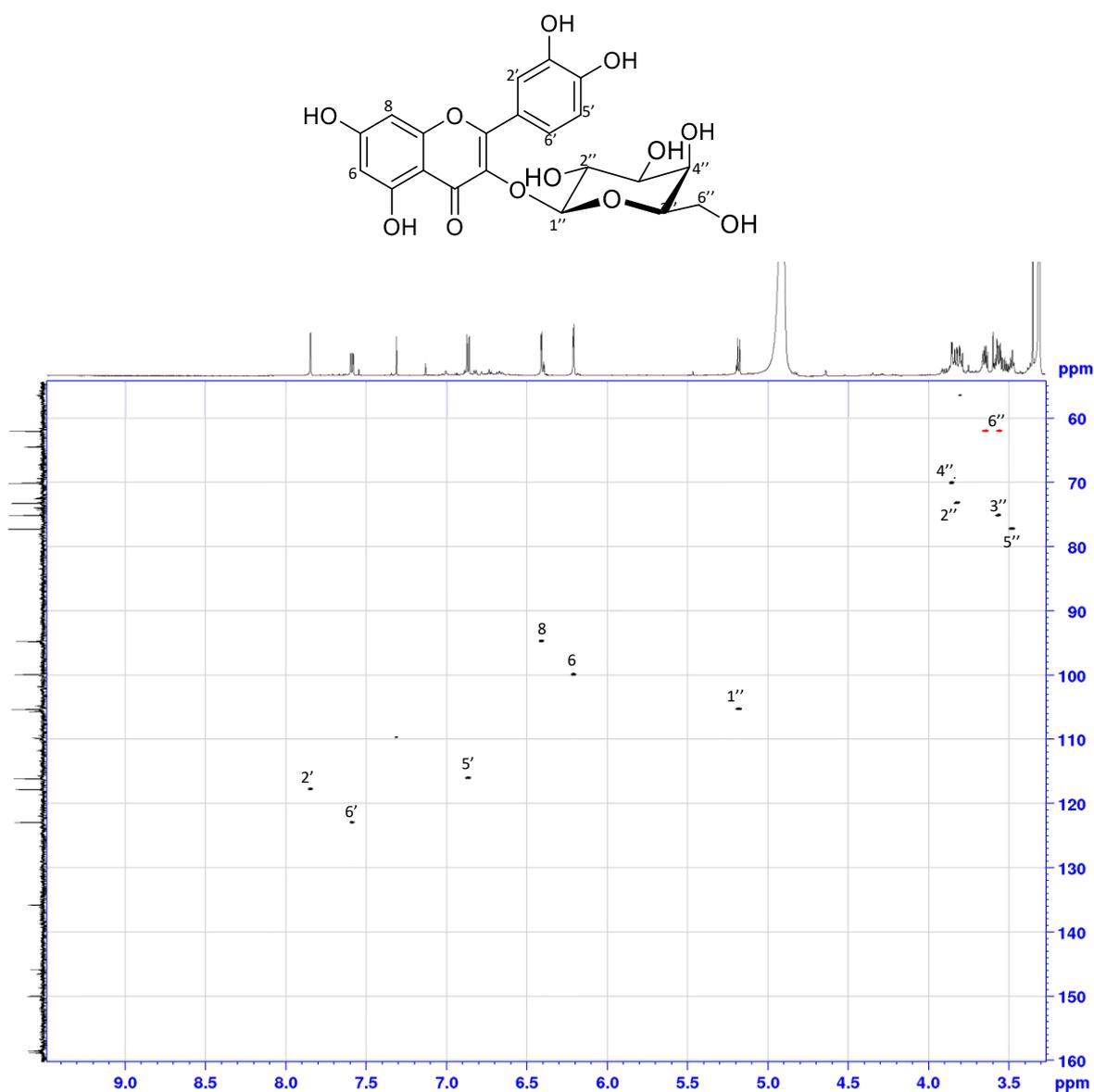


Figure 216 : Spectre HSQC du composé Ac 1

- Analyse du spectre HMBC du composé Ac 1

Au niveau du proton anomérique du galactose H-1'' à δ_H 5.20 ppm, nous observons une corrélation avec le carbone C-3 (δ_C 135.7 ppm) sur le spectre HMBC (Figure 217), indiquant que le sucre est lié en position 3 de la quercétine dans le composé **Ac 1**.

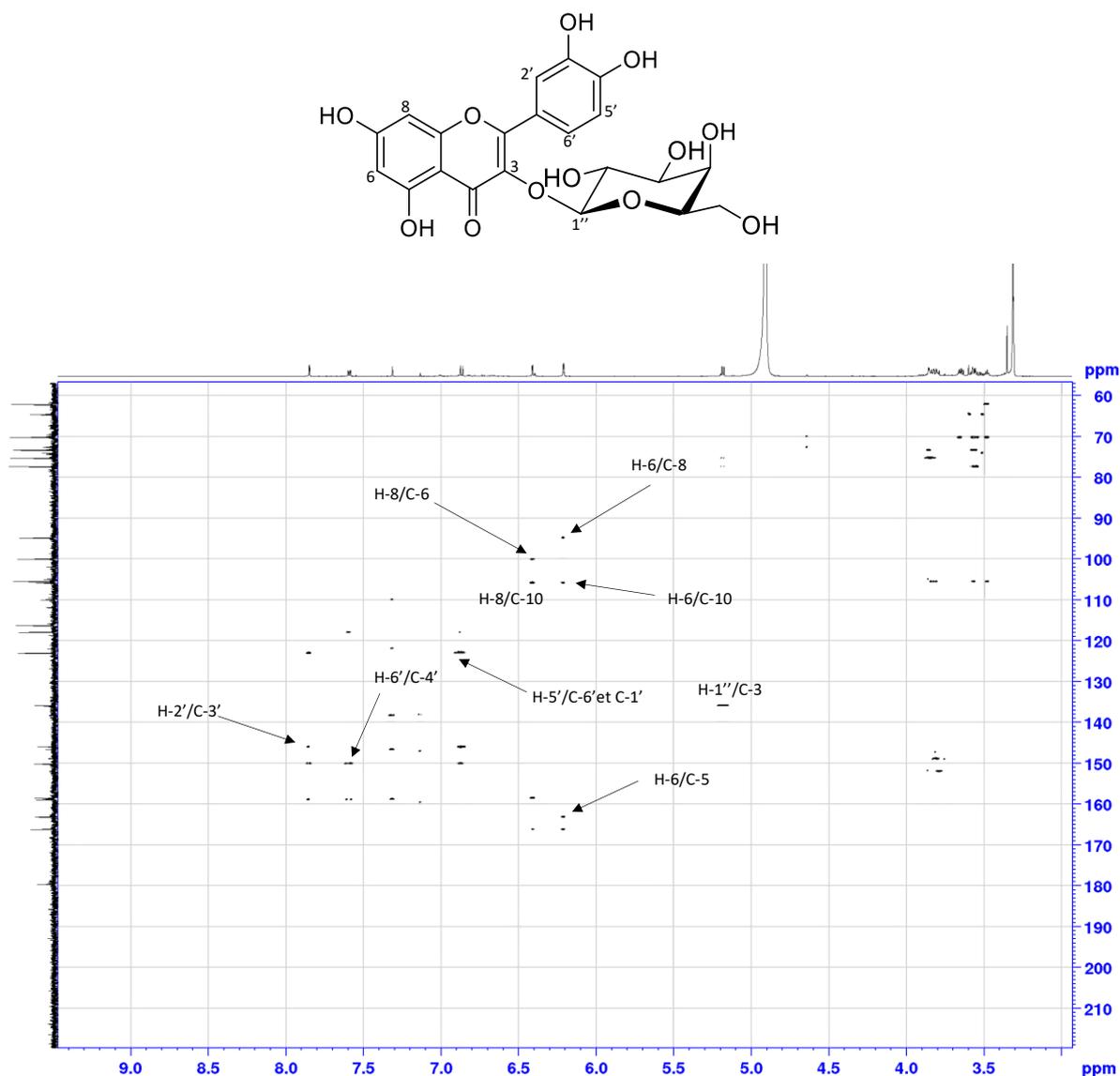


Figure 217 : Spectre HMBC du composé Ac 1

Les valeurs des déplacements chimiques des carbones de **Ac 1** (Tableau 46) en comparaison avec les données de la littérature indiquent que le composé **Ac 1** est la quercétine 3-*O*- β -D-galactopyranoside ou **Hyperoside** (Piao et al., 2008).

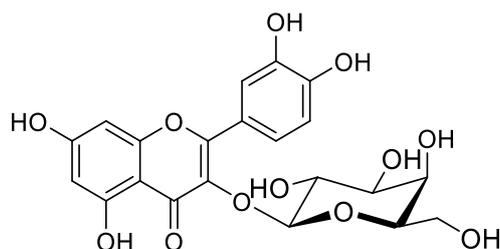


Tableau 46 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du composé **Ac1** dans CD_3OD

Position	Ac1		Position	Ac1	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
2	158.7	-	Gal		
3	135.7	-	1''	105.3	5.20 d (7.1)
4	179.5	-	2''	73.1	3.80 dd (9.5, 7.5)
5	163.0	-	3''	75.06	3.58 dd (9.5, 3.4)
6	99.85	6.21 d (2.1)	4''	70.1	3.87 d (3.4)
7	166.0	-	5''	77.18	3.50 m
8	94.7	6.41 d (2.1)	6''	61.9	3.61 m 3.65 dd (11.2, 6.0)
9	158.4	-			
10	105.6	-			
1'	122.9	-			
2'	117.5	7.85 d (2.2)			
3'	145.8	-			
4'	158.5	-			
5'	116.1	6.90 d (8.5)			
6'	122.9	7.80 dd (8.5, 2.2)			

III.2.2.2. Détermination structurale du composé Ac 2

- Analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé Ac 2

Le spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) (Figure 218) montre la présence des signaux caractéristiques d'un dérivé de la myricétine :

- Deux doublets ($J = 1.9$ Hz), intégrant chacun pour 1H à 6.20 ppm (H-6) et 6.38 ppm (H-8).
- Un singulet à δ_{H} 7.38 ppm d'intégration 2H attribuable à H-2' et H-6'.
- Un doublet ($J = 7.1$ Hz) à δ_{H} 5.20 ppm d'intégration 1H correspondant au proton anomérique H-1''.

Le spectre RMN ^{13}C (Figure 219) montre un signal à δ_{C} 136.0 ppm attribuable à C-3, ce qui confirme une substitution en position 3 par un sucre.

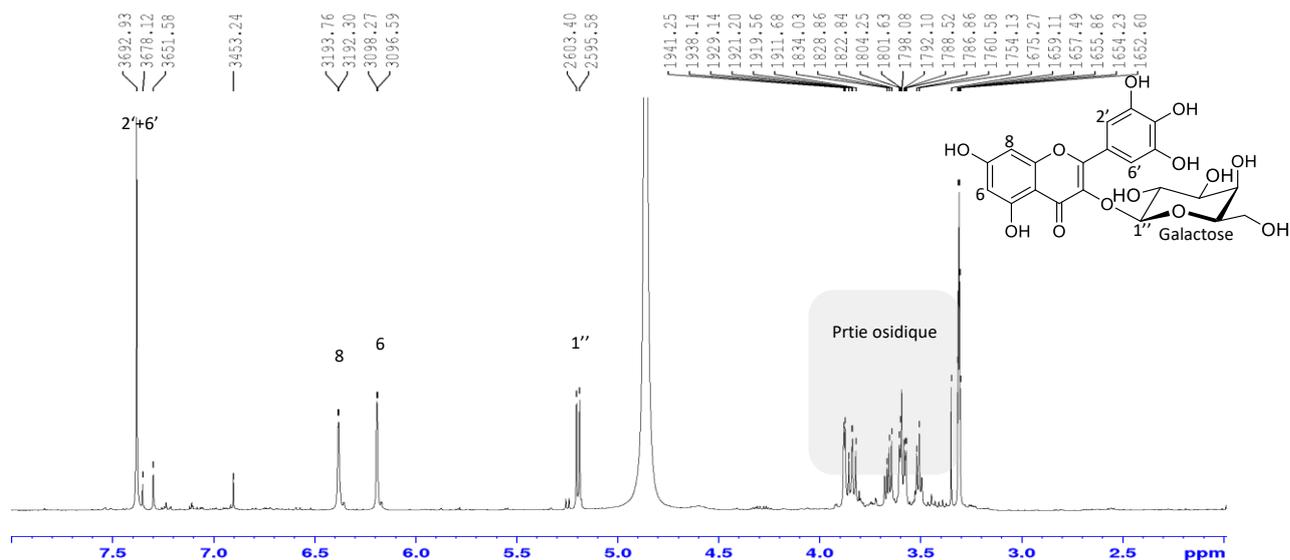


Figure 218 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **Ac 2**

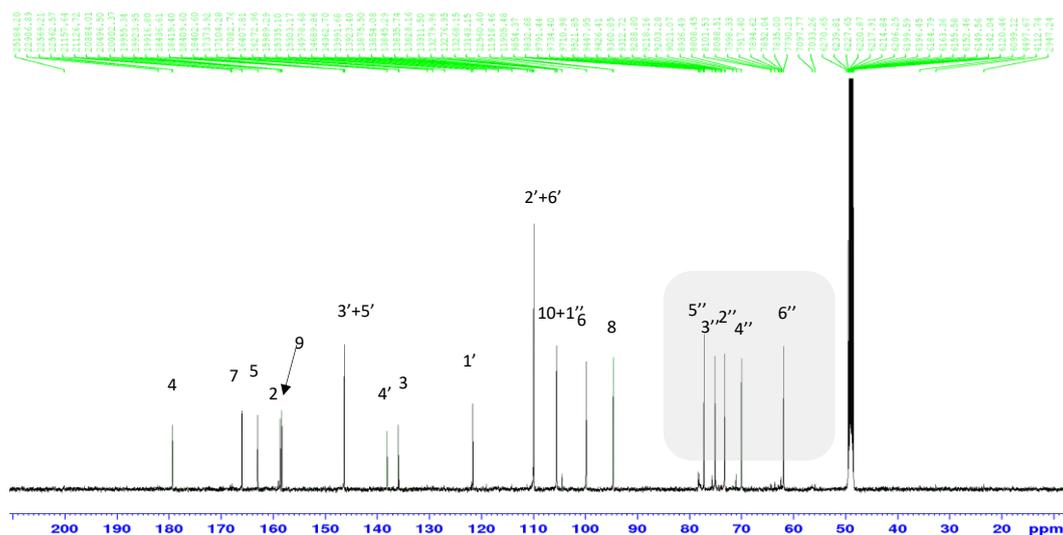


Figure 219 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Ac 2**

- Analyse du spectre COSY du composé Ac 2

L'expérience COSY (Figure 220) permet de retrouver toutes les corrélations bien caractéristiques du galactose par leurs déplacements chimiques et constantes de couplage en comparaison avec le composé **Ac 1**.

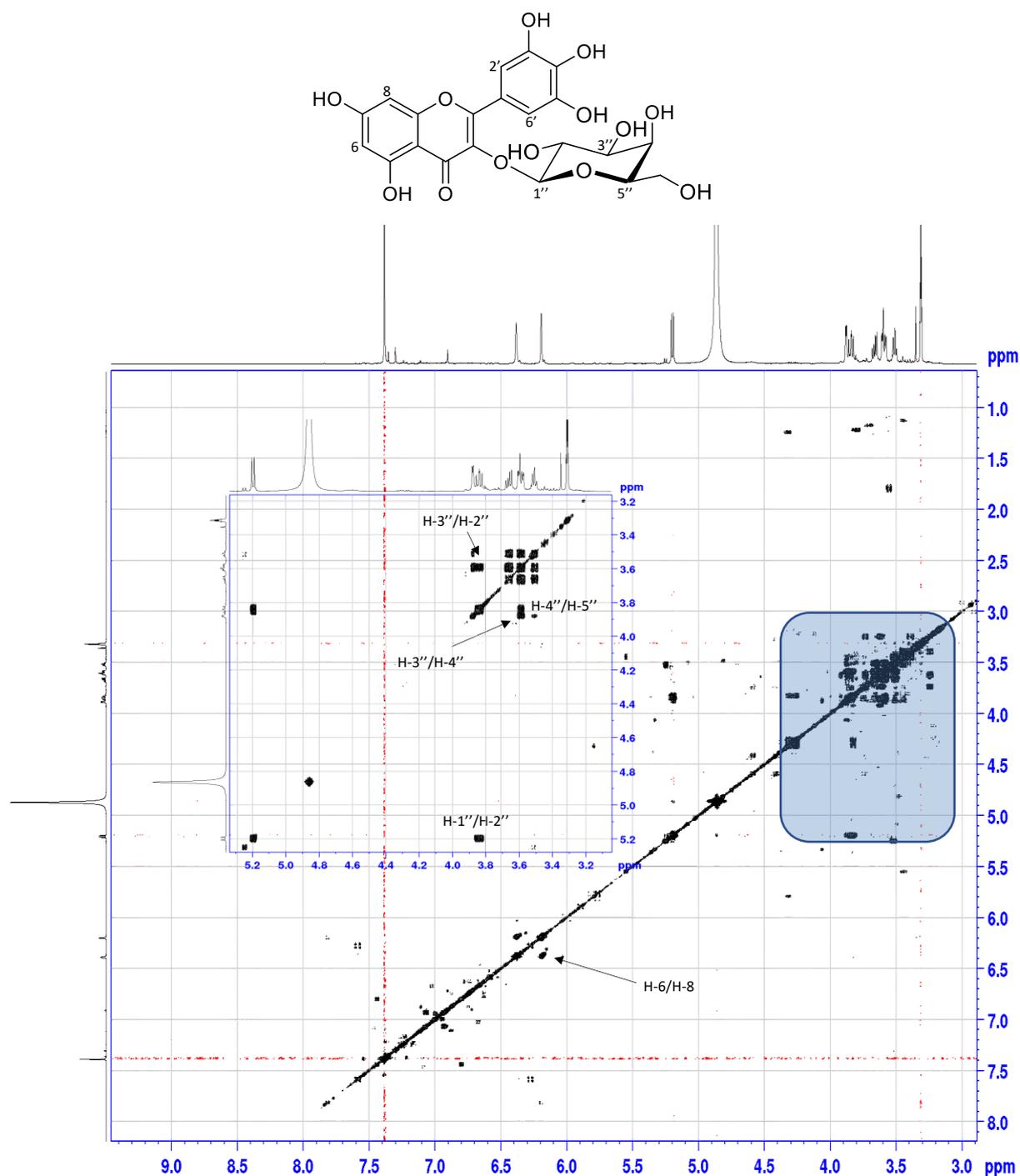


Figure 220 : Spectre de COSY du composé Ac 2

- Analyse du spectre HSQC du composé Ac 2

Les corrélations C-H observées sur le spectre HSQC *J*-modulé (Figure 221) permettent d'attribuer les déplacements chimiques des carbones correspondants aux protons déjà identifiés. Les carbones osidiques sont en accords avec ceux d'un β -D-galactopyranose.

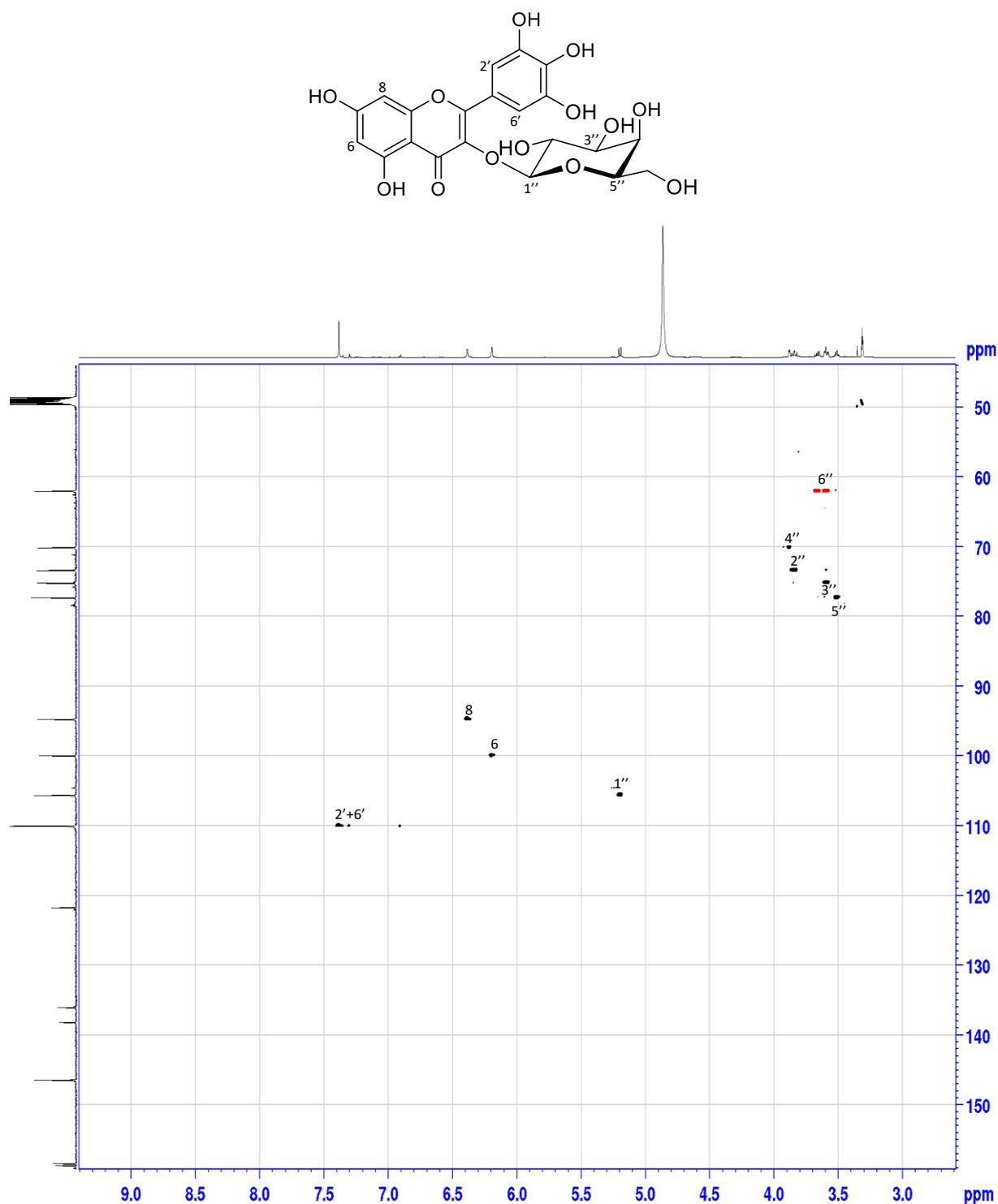


Figure 221 : Spectre de HSQC du composé Ac 2

- Analyse du spectre HMBC du composé Ac 2

A l'aide du spectre HMBC (Figure 222) la structure complète est établie car les corrélations observées permettent d'identifier les carbones quaternaires et de relier toutes les parties de la structure.

- Le proton H-6 présente des corrélations avec les carbones C-5, C-7, C-8 et C-10.
- Des corrélations à partir du proton H-8 sont observées avec les carbones C-6, C-9 et C-10.
- D'autres taches de corrélations sont observées entre les protons H-6' et H-2' et les carbones C-1', C-2', C-6', C-3' C-5', et C-4'.
- La tache de corrélation entre H-1'' du galactose et C-3 indique que le sucre est attaché en position 3 de la génine.

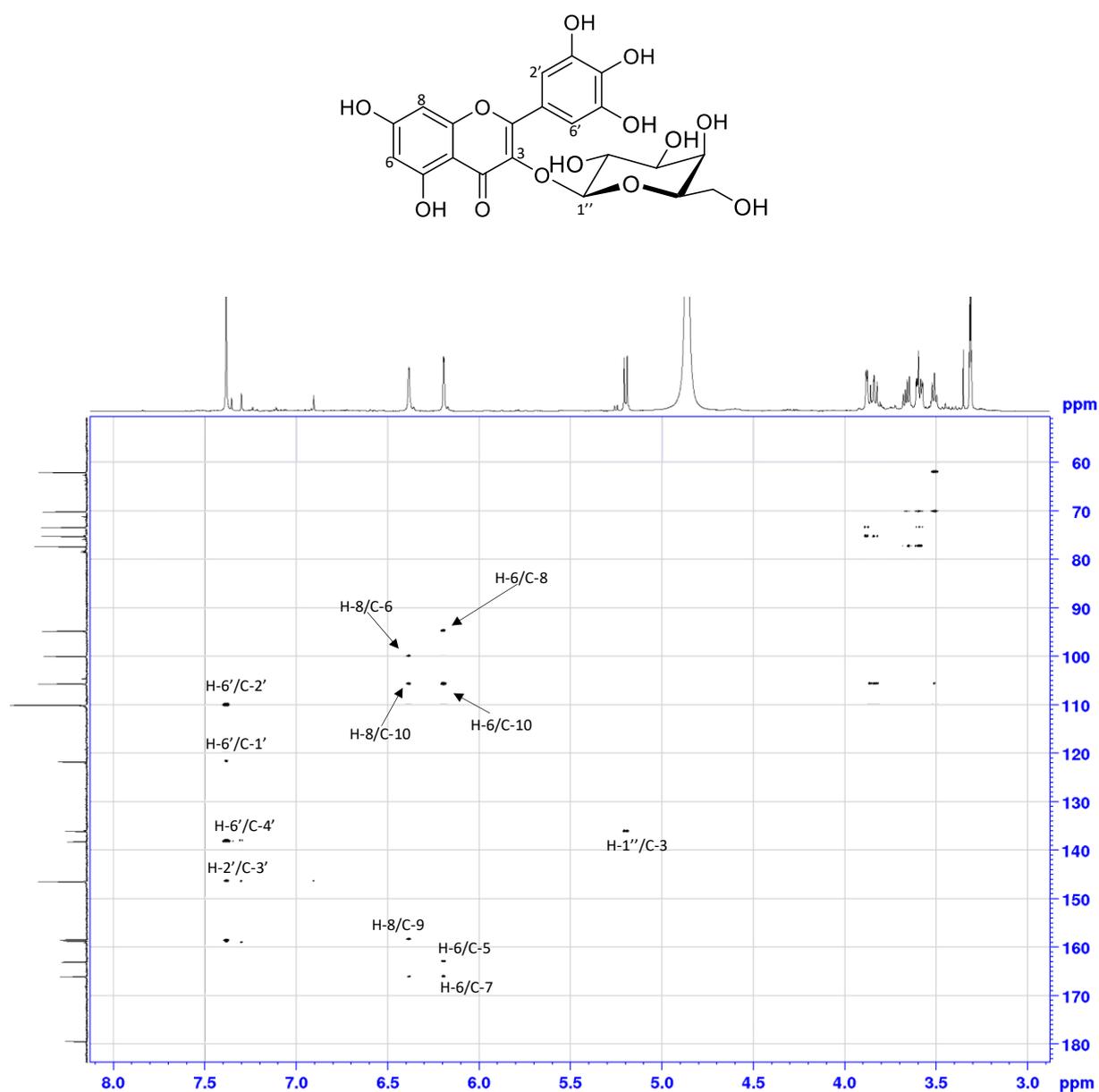


Figure 222 : Spectre de HMBC du composé Ac 2

L'ensemble de ces éléments sont en accord avec ceux de la littérature (Compos et al., 2013), ce qui permet d'identifier le composé **Ac 2** comme étant la myricétine 3-*O*- β -D-galactopyranoside (Tableau 47).

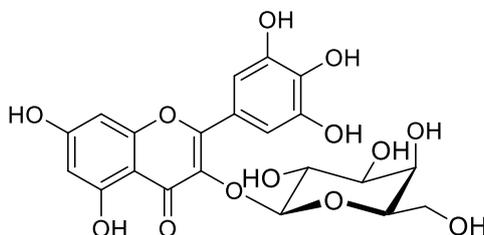


Tableau 47 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du composé **Ac 2** dans CD_3OD

Position	Ac2		Position	Ac2	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
2	158.7	-	Gal		
3	136.0	-	1''	105.3	5.20 d (7.1)
4	179.3	-	2''	73.1	3.80 dd (9.3, 7.4)
5	163.0	-	3''	75.06	3.58 dd (9.3, 3.4)
6	100.0	6.20 d (1.9)	4''	70.1	3.87 d (3.4)
7	166.3	-	5''	77.18	3.50 m
8	94.7	6.38 d (1.9)	6''	61.9	3.61 m 3.65 dd (11.2, 6.0)
9	158.4	-			
10	105.6	-			
1'	121.8	-			
2'	109.9	7.38 s			
3'	146.3	-			
4'	138.4	-			
5'	146.3	-			
6'	109.9	7.38 s			

III.2.2.3. Détermination structurale du composé **Ac 3**

- Analyse des spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **Ac 3**

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C (600, 150 MHz, CD_3OD) *J*-modulé du composé **Ac 3** (Figures 223-224) montrent la présence des signaux du composé **Ac 1** avec la disparition des signaux du galactose remplacés par ceux de l'arabinose.

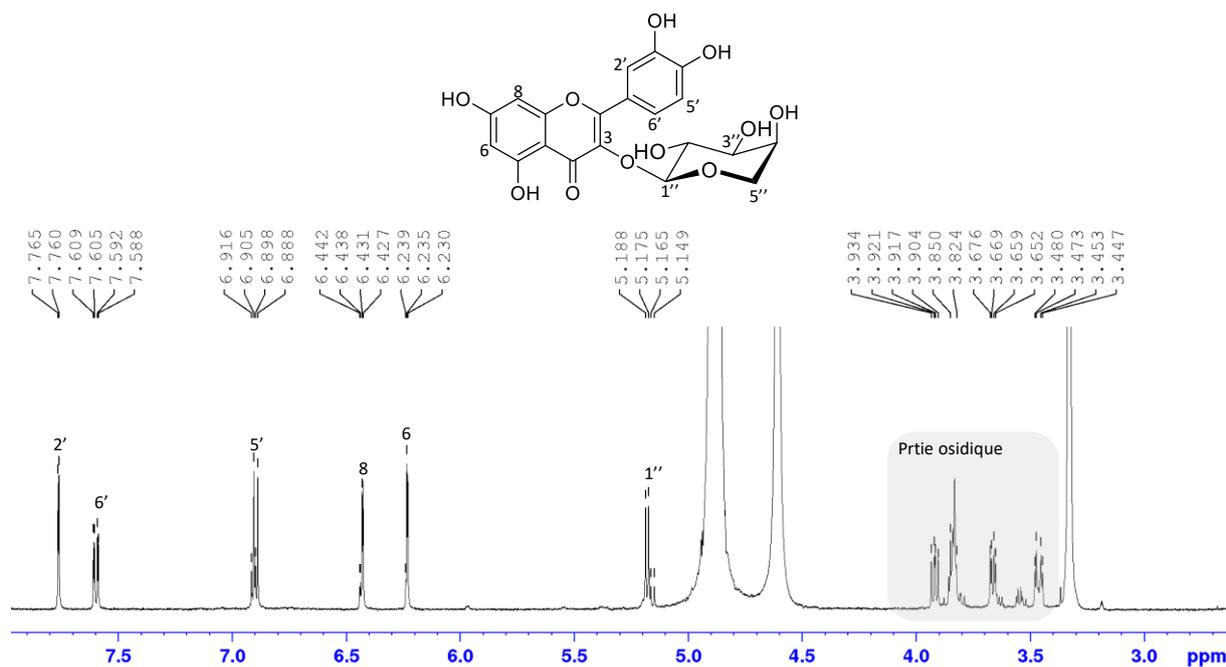


Figure 223 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **Ac 3**

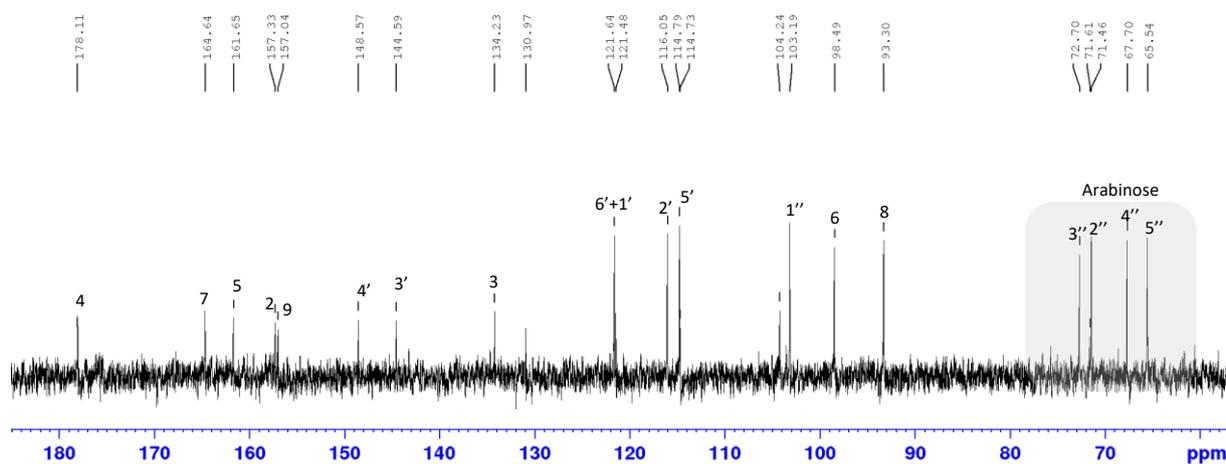


Figure 224 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **Ac 3**

- Analyse du spectre COSY du composé **Ac 3**

L'examen du spectre COSY (Figure 225) permet d'attribuer tous les signaux de l'arabinose du composé **Ac 3**, les principales corrélations sont citées ci-dessous :

- une corrélation entre H-1'' (δ_{H} 5.20) et H-2'' sous forme doublet de doublet ($J=8.5, 7.0$ Hz) à δ_{H} 3.90 ppm.
- une corrélation entre H-2'' et H-3'' sous forme doublet de doublet ($J=8.5, 3.0$ Hz) à δ_{H} 3.65 ppm.

- une corrélation entre H-3'' et H-4'' sous forme triplet ($J=3.5$ Hz) à δ_H 3.82 ppm.
- une corrélation entre H-4'' et Ha, b-5'' sous forme doublet de doublet ($J=13.0, 3.0$) à δ_H 3.45 ppm et 3.85 ppm.

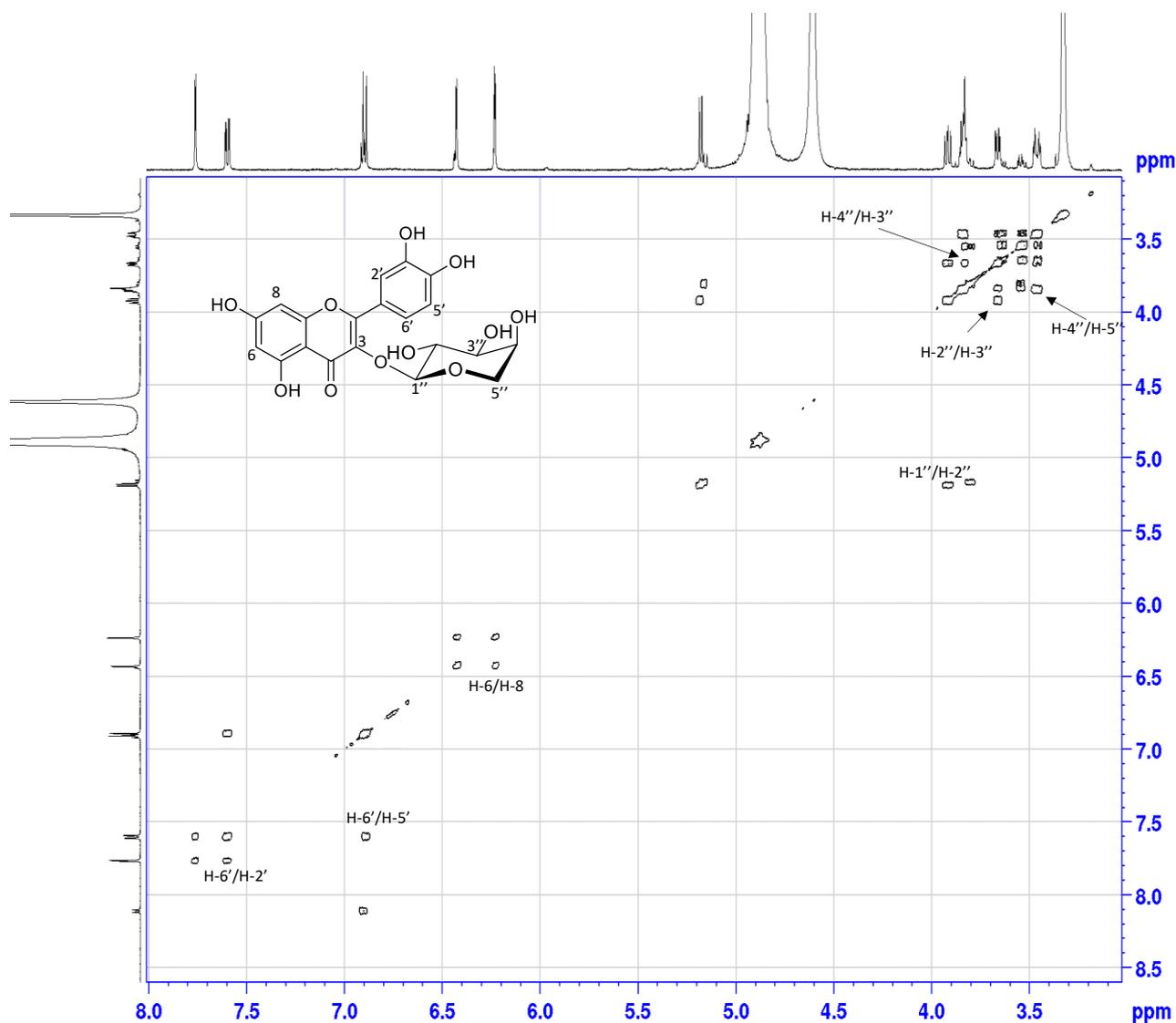


Figure 225 : Spectre de COSY du composé **Ac 3**

Les déplacements chimiques des protons et carbones de l'unité osidique sont attribués à un arabinose par comparaison à ceux de la littérature.

- Analyse du spectre *HMBC* du composé **Ac 3**

Les corrélations C-H observées sur le spectre *HMBC* (Figure 226) permettent d'attribuer les déplacements chimiques des carbones de la partie génine (Tableau 48) qui sont en accords avec ceux du quercétol comme pour le composé **Ac 1**.

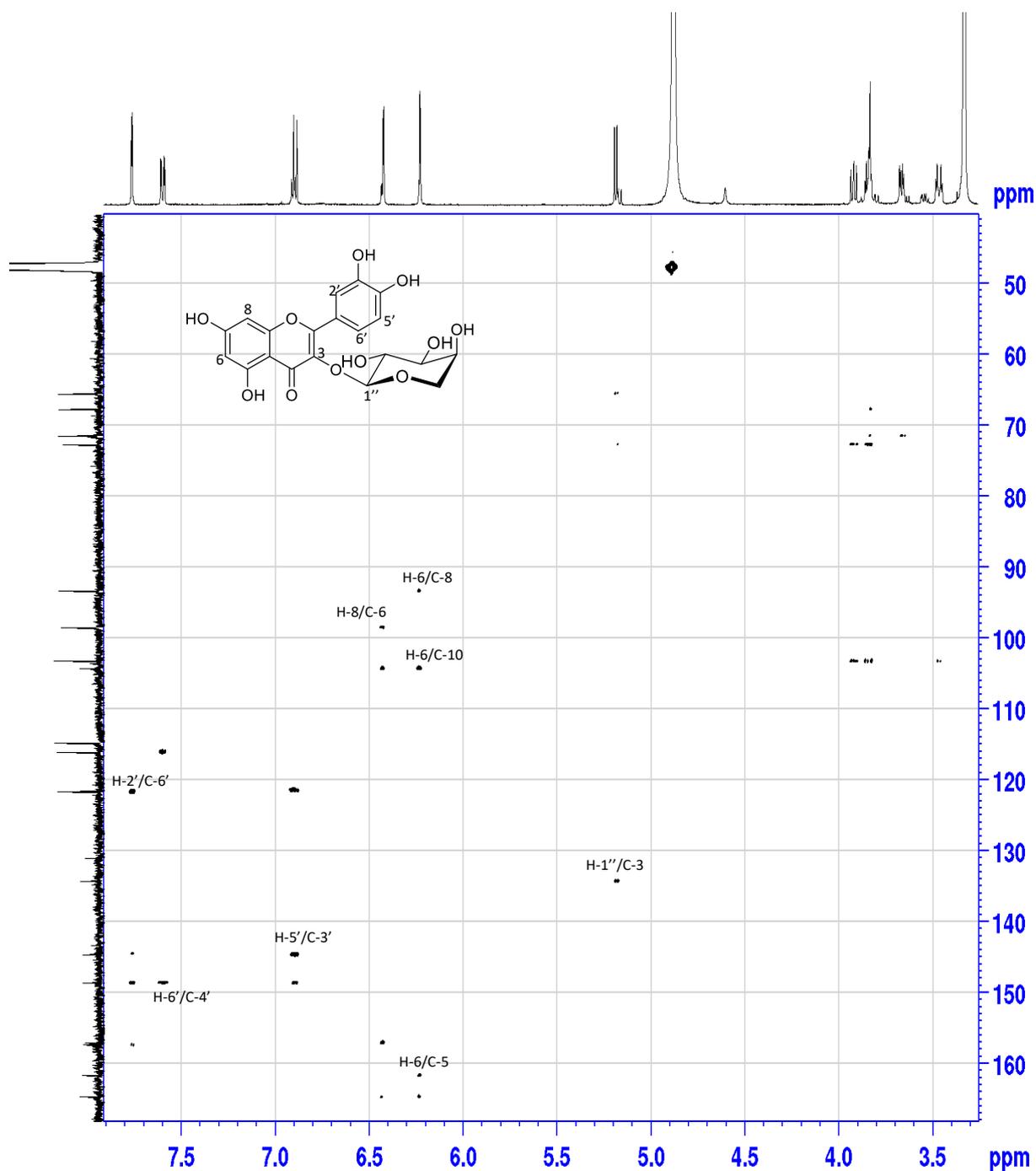


Figure 226 : Spectre HMBC du composé **Ac 3**

Les valeurs des déplacements chimiques des carbones de **Ac 3** (Tableau 48) en comparaison avec les données de la littérature indiquent que le composé **Ac 3** est la quercétine 3-*O*- α -L-arabinopyranoside (Kim et al., 2018).

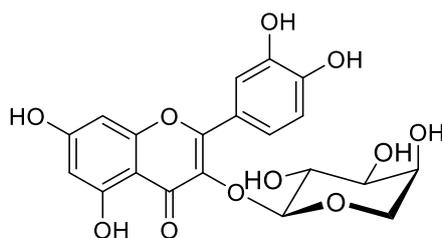


Tableau 48 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du composé Ac 3 dans CD_3OD

Position	Ac3		Position	Ac3	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
2	157.3	-	Ara		
3	134.4	-	1''	103.2	5.20 d (7.0)
4	178.1	-	2''	71.6	3.90 dd (8.5, 7.0)
5	161.6	-	3''	72.7	3.65 dd (8.5, 3.0)
6	98.5	6.25 d (2.1)	4''	67.7	3.82 t (3.5)
7	165.0	-	5''	65.5	3.45 dd (13.0, 3.0) 3.85 dd (13.0, 3.0)
8	93.3	6.45 d (2.1)			
9	157.0	-			
10	104.2	-			
1'	121.5	-			
2'	118.0	7.75 d (2.2)			
3'	146.0	-			
4'	148.9	-			
5'	114.8	6.90 d (2.5)			
6'	121.6	7.60 dd (8.5, 2.2)			

III.2.3. Conclusion

Trois flavonoïdes (**Ac1-3**) de structure connue ont été isolés à partir de la fraction butanolique issue de l'extraction hydrométhanolique d'*Arenaria cerastioides* Poir.

Chapitre 3 :

Evaluation de l'activité antioxydante

III.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante d'*Arenaria cerastioides*

Dans notre étude, nous avons testé la capacité antiradicalaire de l'extrait brut (hydroalcoolique (**Far/M**)) issu de la plante entière et des fractions obtenues par extraction liquide-liquide avec deux solvants de polarité différente (l'acétate d'éthyle (**Far/A**) et le *n*-butanol (**Far/B**)). Les absorbances obtenues sont transformées en pourcentage d'inhibition permettant de faire un diagramme du pourcentage d'inhibition de chaque échantillon en fonction de sa concentration. La capacité antioxydante est rapportée à des antioxydants de référence le Butylhydroxyanisole (BHA) et le Butylhydroxytoluène (BHT).

III.3.1.1. Piégeage du radical DPPH*

Nous présentons ci-dessous (Figure 227), les résultats des différentes capacités antioxydantes par leurs pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait **Far/M** et des fractions **Far/A** et **Far/B**.

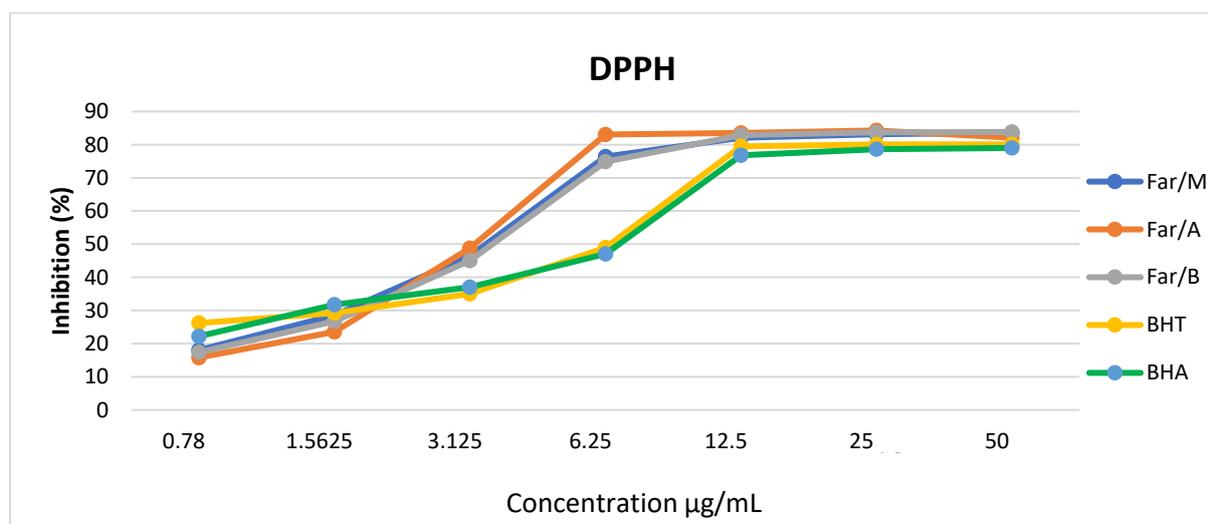


Figure 227 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH* par les extraits de la plante *A. cerastioides*

La CI_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un extrait, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre DPPH* de 50 %.

Les valeurs plus faibles de la CI_{50} indiquent l'efficacité de l'extrait et ainsi un pouvoir antioxydant plus fort. Des valeurs des CI_{50} permettent de classer la capacité de piégeage du radical DPPH* par les extraits testés entre elles et par rapport aux standards. À la suite des calculs de la CI_{50} réalisés, les résultats indiquent (Figure 228) que les extraits **Far/M** (CI_{50} 3.59 ± 0.10 µg/mL), **Far/A** (CI_{50} 3.50 ± 0.03 µg/mL) et **Far/B** (CI_{50} 3.89 ± 0.14 µg/mL) possèdent

une excellente activité antiradicalaire meilleure que celle des standards **BHT** (6.82 ± 0.49 $\mu\text{g/mL}$) et **BHA** (6.48 ± 0.31 $\mu\text{g/mL}$). Il n'y a pas de différence significative entre eux.

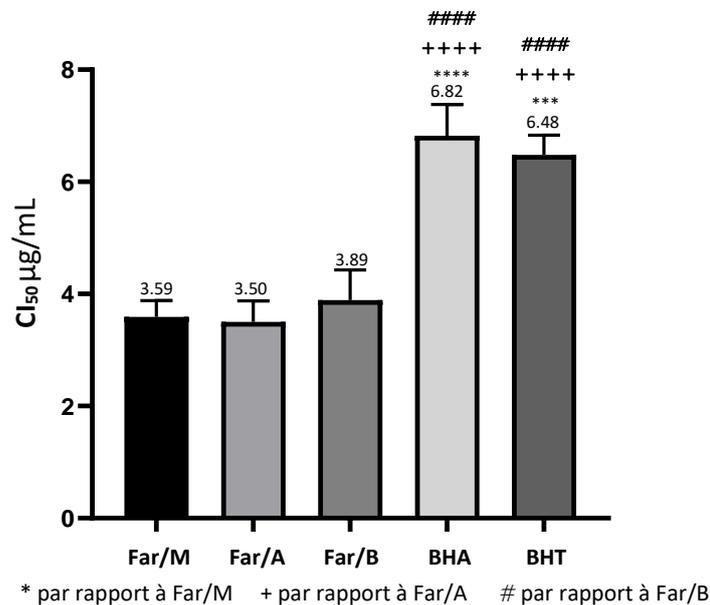


Figure 228 : Valeurs des CI₅₀ des différents extraits de *A. cerastioides* testés pour le DPPH. Les symboles (*; + ; #) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0.05$)

III.3.1.2. Piégeage du radical ABTS^{•+}

Selon le graphe ci-dessous (Figure 229), l'évolution des pourcentages d'inhibition des extraits est proportionnelle à l'évolution de leur concentration.

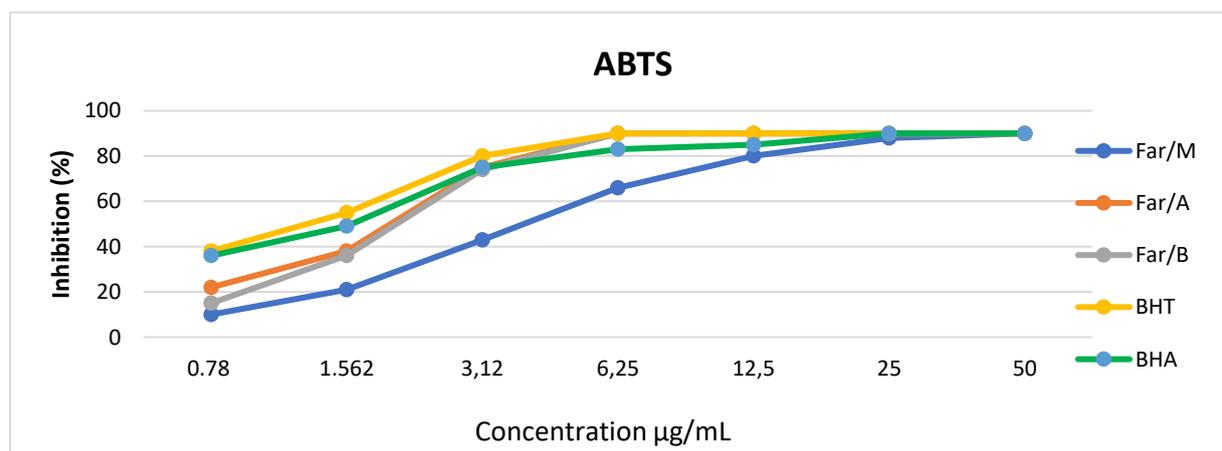


Figure 229 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} par les extraits de la plante *A. cerastioides*.

Les valeurs des CI₅₀ (Figure 230) montrent que l'extrait **Far/M** (CI₅₀ 3.39 ± 0.23 $\mu\text{g/mL}$) et les fractions **Far/A** (CI₅₀ 2.05 ± 0.01 $\mu\text{g/mL}$) et **Far/B** (CI₅₀ 2.09 ± 0.71 $\mu\text{g/mL}$) possèdent

d'excellentes activités réductrices du radical ABTS^{•+} et dont les dernières sont proches à 2 µg/mL et représentent environ le double de celle du standard **BHT** (CI₅₀ 1.03±0.61 µg/mL).

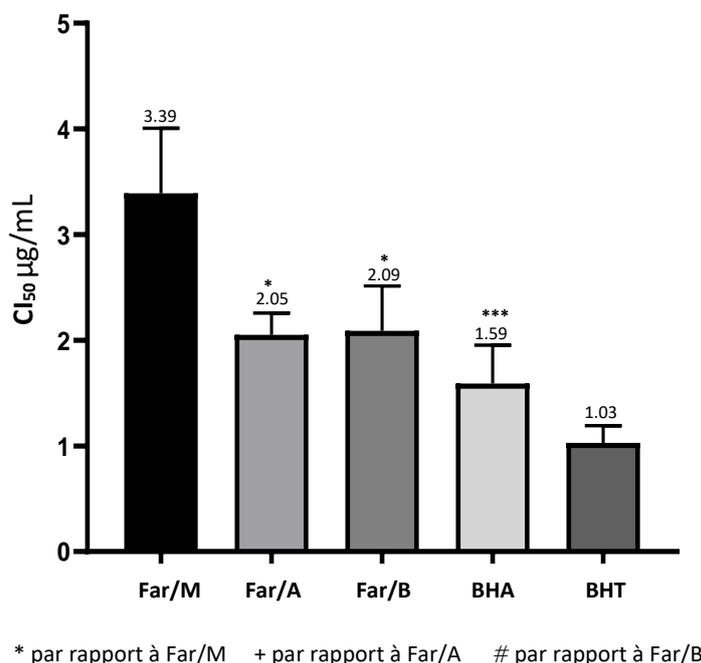


Figure 230 : Valeurs des CI₅₀ des différents extraits de *A. cerastioides* testés pour le ABTS. Les symboles (*; + ; #) indiquent une différence significative entre les extraits (p<0.05)

III.3.1.3. Méthode de réduction CUPRAC

L'analyse de l'absorbance des extraits par la méthode CUPRAC (Figure 231), montre une augmentation en fonction de la concentration, avec la fraction **Far/A** mais qui restent inférieurs au BHA. L'extrait **Far/M** présente l'absorbance le plus basse à partir de 25µg/mL.

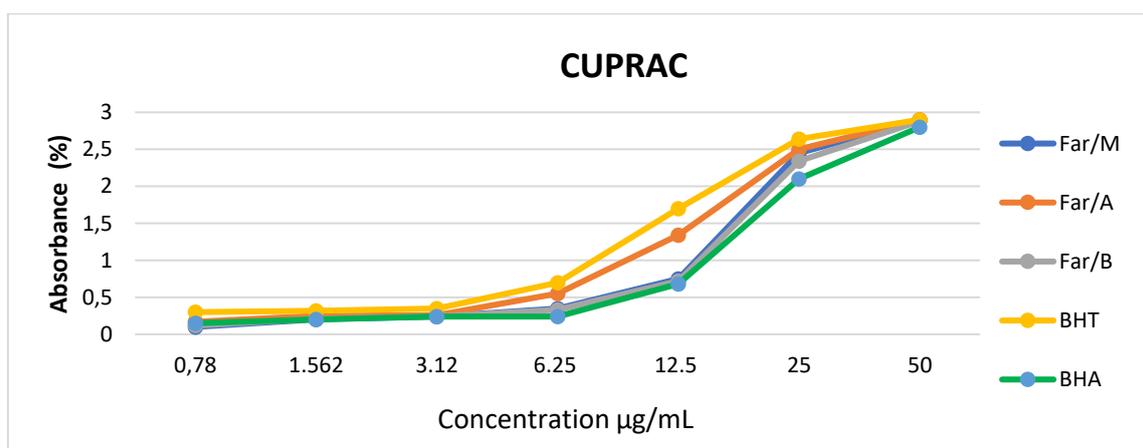


Figure 231 : Courbes de pourcentage d'absorbance par les extraits de la plante *A. cerastioides*.

Les résultats montrent que la fraction **Far/A** possède le pouvoir le plus réducteur du CUPRAC ($A_{0.5} 5,73 \pm 1.06 \mu\text{g/mL}$) suivie de l'extrait **Far/B** puis la fraction **Far/M** qui ont des capacités réductrices proches.

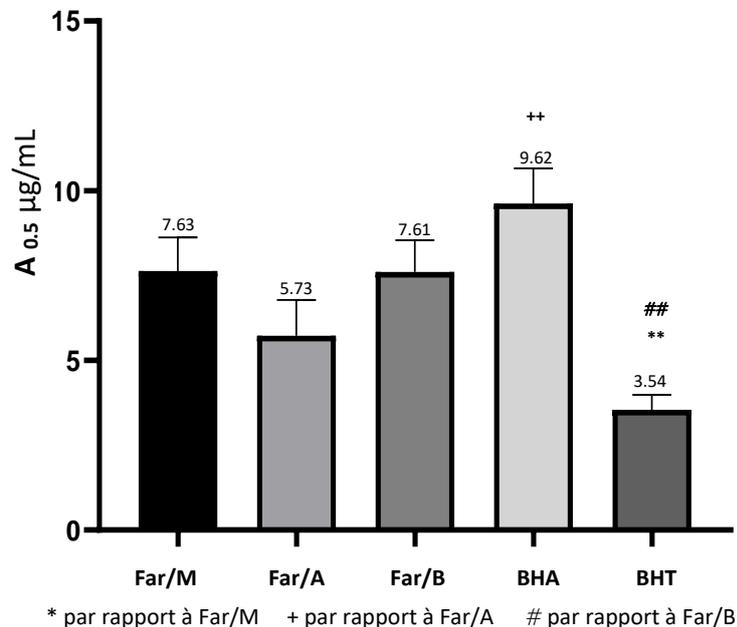


Figure 232 : Valeurs des $A_{0.5}$ des différents extraits de *A. cerastioides* testés pour le CUPRAC. Les symboles (*; +; #) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0.05$)

Après notre étude sur les tests antioxydants DPPH, ABTS et CUPRAC nous avons confirmé nos résultats par la comparaison avec des études effectuées sur des plantes du même genre riches en polyphénols (Chang et Gong, 2005).

La plante *A. montana* a présenté des activités antioxydantes (Pereira et al., 2014). L'extrait méthanolique de la plante entière a montré des activités antiradicalaires très intéressantes vis à vis des radicaux **DPPH[•]** et **ABTS^{•+}** avec des valeurs respectives des CI_{50} ($0.90 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ et de $0.93 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$). En revanche l'extrait aqueux possède une activité inhibitrice de **ABTS^{•+}** relativement 2 fois plus forte que celle de l'extrait méthanolique avec une CI_{50} de $0.93 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$.

III.3.2. Evaluation du pouvoir antioxydant d'*Anagallis monelli*

La même procédure a été suivie pour tester l'activité antioxydante de l'extrait brut hydroalcoolique d'*Anagallis monelli* **Fan/M** et les fractions provenant des extractions liquide-liquide **Fan/A** et **Fan/B**.

III.3.2.1. Piégeage du radical DPPH*

Selon les résultats d'activité réductrice du DPPH (Figure 233), les taux d'inhibition les plus importants sont observés par le BHA et BHT, suivis par la fraction **Fan/A** et l'extrait **Fan/M**, et enfin la fraction **Fan/B** avec les taux les plus faibles. L'évolution des pourcentages d'inhibition reste proportionnelle à la concentration.

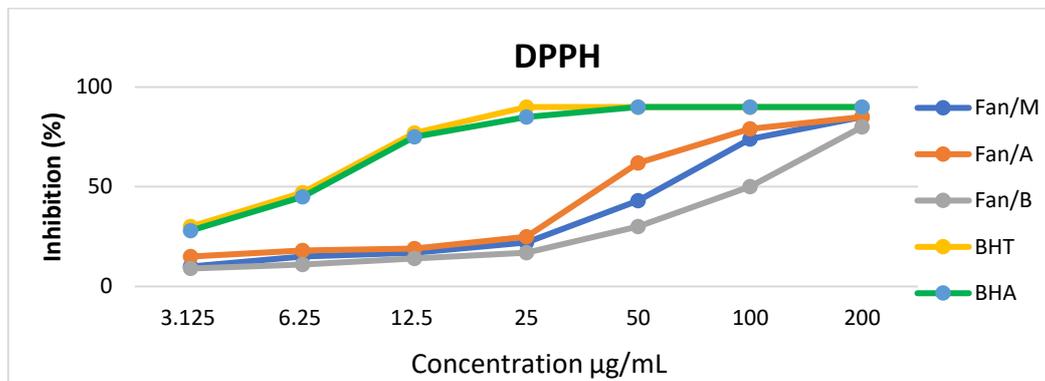


Figure 233 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH* par les extraits de la plante *A. monelli*

D'après les CI_{50} calculées (Figure 234), il ressort qu'effectivement l'extrait **Fan/B** ($CI_{50} = 98.81 \pm 0.82 \mu\text{g/mL}$) possède le pouvoir antioxydant le plus faible comparé à celui du **BHT** ($CI_{50} = 6.48 \pm 0.49 \mu\text{g/mL}$) et du **BHA** ($CI_{50} = 6.82 \pm 0.31 \mu\text{g/mL}$) et il est inférieur à celui de l'extrait **Fan/M** ($CI_{50} = 60.35 \pm 1.45 \mu\text{g/mL}$) et encore inférieur à celui de la fraction **Fan/A** ($CI_{50} = 40.35 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$).

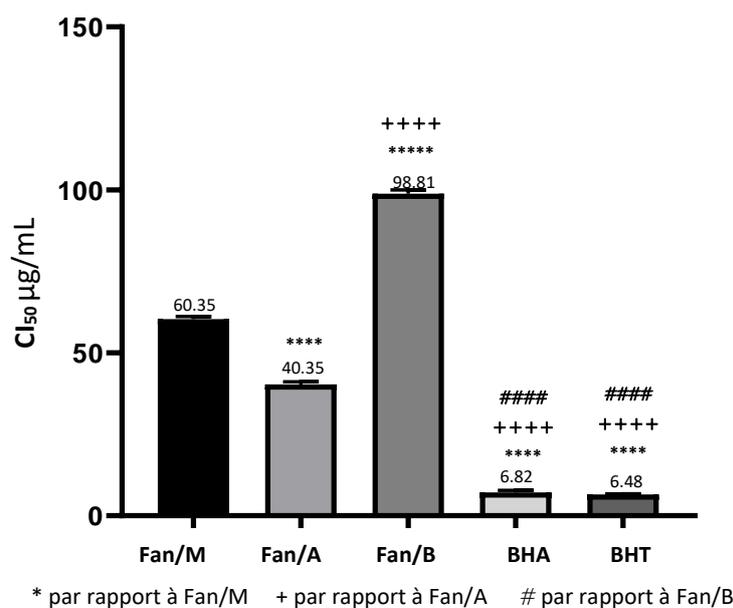


Figure 234 : Valeurs des CI_{50} des différents extraits de *A. monelli* testés pour le DPPH. Les symboles (*; +; #) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0.05$)

III.3.2.2. Piégeage du radical ABTS^{•+}

Les résultats d'activité inhibitrice de l'ABTS (Figure 235) sont exprimés par les pourcentages d'inhibitions de l'extrait **Fan/M** et les fractions **Fan/A** et **Fan/B** que l'on compare aux standards **BHA** et **BHT**. Les courbes présentées (Figure 235) montrent que les pourcentages d'inhibition de l'extrait brut (**Fan/M**) et les fractions (**Fan/A**, **Fan/B**) sont nettement inférieurs à ceux des standards. En Particulier la fraction **Fan/B** a enregistré le plus faible taux d'inhibition.

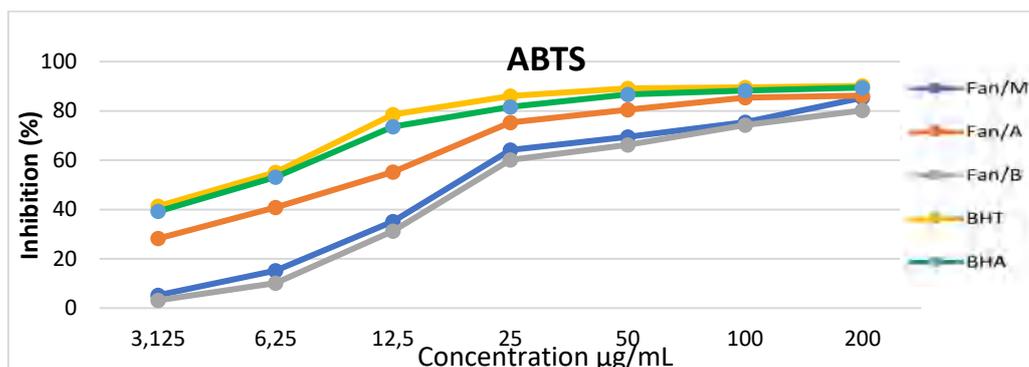
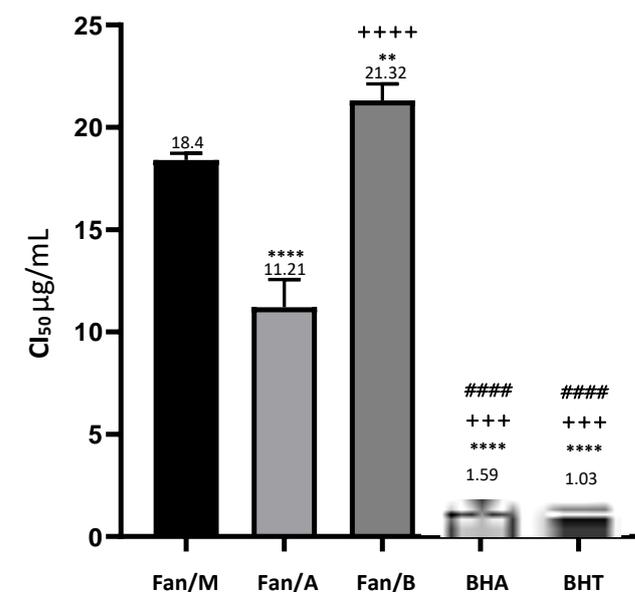


Figure 235 : Courbes de pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} par l'extraits et les fractions de la plante *A. monelli*

Ces performances exprimées avec les CI_{50} montrent que l'extrait **Fan/M** (CI_{50} 18.4 ± 1.20 µg/mL) et la fraction **Fan/A** (CI_{50} 11.21 ± 0.54 µg/mL) possèdent une activité réductrice de l'ABTS supérieure à celle de la fraction **Fan/B** (CI_{50} 21.32 ± 0.84 µg/mL). Les CI_{50} du BHA et BHT sont 1.59 et 1.03 µg/mL, respectivement (Figure 236).



* par rapport à Fan/M + par rapport à Fan/A # par rapport à Fan/B

Figure 236 : Valeurs des CI_{50} de l'extraits et des différentes fractions de *A. monelli* testés pour l'ABTS. Les symboles (*; + ; #) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0.05$)

III.3.2.3. Méthode de réduction CUPRAC

Comme il est présenté dans la Figure 237 l'extrait **Fan/A** a donné les absorbances plus fort que **Fan/B**.

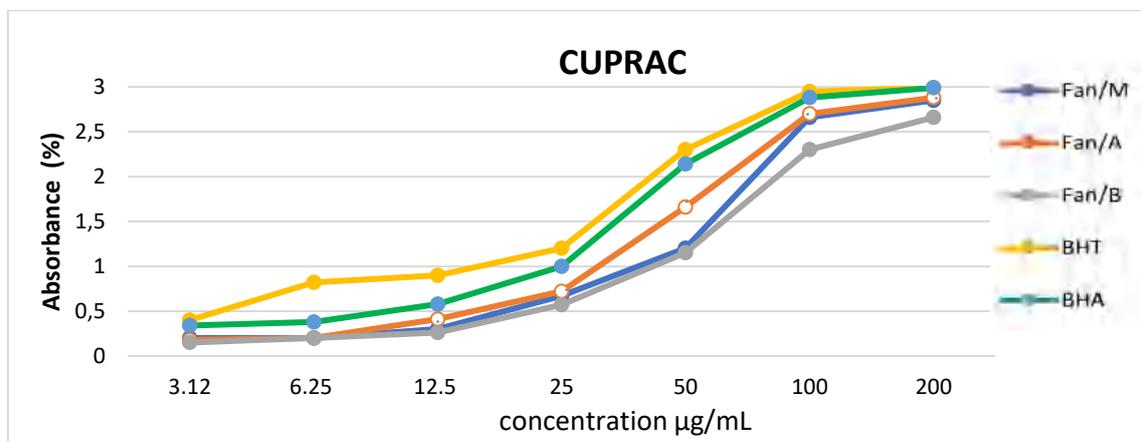


Figure 237 : Courbes de pourcentage d'absorbance par les extraits de la plante *A. monelli*

La fraction **Fan/A** ($A_{0.5}$ 16.24 ± 0.22 µg/mL) a le pouvoir réducteur le plus élevé par comparaison avec celui du **Fan/B** ($A_{0.5}$ 22.98 ± 1.75 µg/mL) et de **Fan/M** ($A_{0.5}$ $20.32 \pm 0,22$ µg/mL) (Figure 238). Cependant, la fraction **Fan/A** a montré une activité plus faible que celle du **BHT** ($A_{0.5}$ 3.54 ± 0.47 µg/mL).

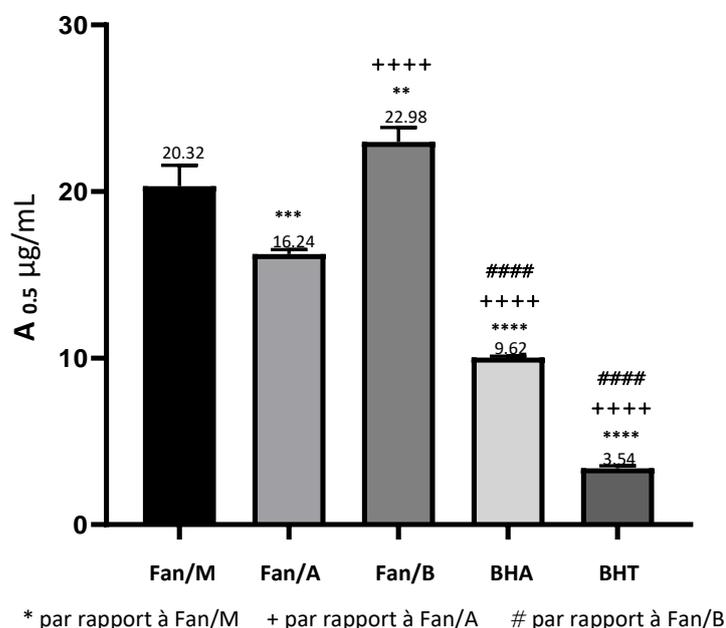


Figure 238 : Valeurs des $A_{0.5}$ des différents extraits de *A. monelli* testés pour le CUPRAC. Les symboles (*; + ; #) indiquent une différence significative entre les extraits ($p < 0.05$)

Des études récentes sur la plante *Anagallis arvensis* ont montré des activités antioxydantes par le piégeage du radical **DPPH•** et le pouvoir réducteur par la méthode du **CUPRAC** (Saxena, et

al., 2021). Ces résultats indiquent le pouvoir antiradicalaire des polyphénols qui sont séparés de ce genre (Saleem et al., 2021 et Saqib et al., 2021).

Dans l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante *A. arvensis* par le test **DPPH**, la CI_{50} obtenue pour l'extrait **hydrométhanolique**, dans les travaux de (Saxena, et al., 2021), est de $CI_{50} 65.06 \pm 1.87 \mu\text{g/mL}$. Elle est proche de celle de l'extrait **Fan/M** ($CI_{50} 60.35 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$). Alors que l'activité de l'extrait **hydrométhanolique** de la plante *A. arvensis* ($A_{0.5} 73.82 \pm 1.21 \mu\text{g/mL}$) est environ 3 fois plus faible que celle de l'extrait **Fan/M** ($A_{0.5} 20.32 \pm 0.22$) dans le test du CUPRAC.

III.3.3. Discussion

➤ Le piégeage du radical DPPH*

Les résultats obtenus (Figure 239) montrent que :

Les extraits **Far/M**, **Far/A** et **Far/B** de la plante *A. cerastioides* avec des CI_{50} de $3.59 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$, $3.50 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ et $3.89 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$ respectivement, présentent une très forte activité antioxydante comparés aux extraits **Fan/M**, **Fan/A** et **Fan/B** de la plante *A. monelli* qui possèdent une activité inhibitrice de DPPH* relativement plus faible avec des CI_{50} de $60.35 \pm 1.45 \mu\text{g/mL}$, $40.23 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$ et $98.21 \pm 0.82 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

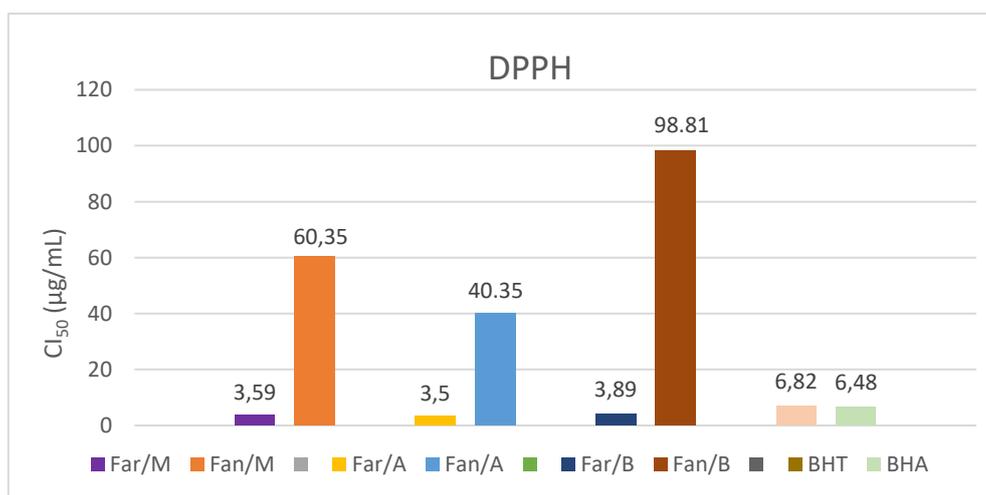


Figure 239 : Histogramme comparatif des valeurs des CI_{50} des différents extraits de *A. monelli* et *A. cerastioides* testés pour le DPPH.

➤ Le piégeage du radical ABTS^{•+}

Les résultats obtenus (Figure 240) montrent que :

Le meilleur pouvoir réducteur de l'ABTS a été obtenu également avec les extraits **Far/M**, **Far/A** et **Far/B** de la plante *A. cerastioides* avec une $CI_{50} = 2.39 \pm 0.29 \mu\text{g/mL}$, $2.05 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ et $2.09 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$, respectivement, qui est environ de 5 à 10 fois plus fort comparativement au pouvoir des extraits **Fan/M**, **Fan/A** et **Fan/B** de la plante *A. monelli* avec des CI_{50} de $18.4 \pm 1.20 \mu\text{g/mL}$, $11.21 \pm 0.54 \mu\text{g/mL}$ et $21.321 \pm 0.84 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

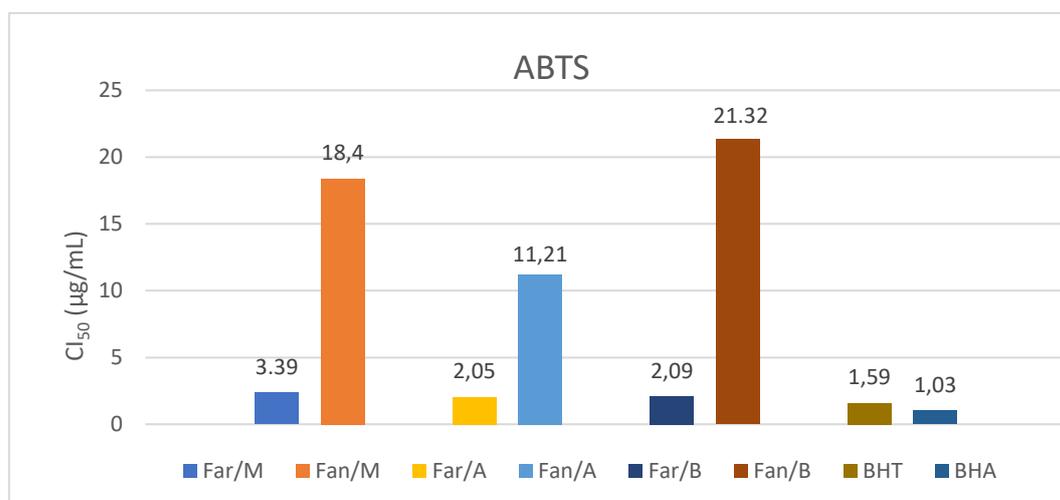


Figure 240 : Histogramme comparatif des valeurs des CI_{50} des différents extraits de *A. monelli* et *A. cerastioides* testés pour le ABTS.

➤ La méthode CUPRAC

Les résultats obtenus (figure 241) montrent que :

Le pouvoir réducteur le plus élevé de la plante *A. cerastioides* est observé dans l'extrait **Far/A** exprimant une valeur d' $A_{0,5}$ de l'ordre de $5.73 \pm 1.06 \mu\text{g/mL}$, suivi par celui des fractions **Far/M** et **Far/B** ($A_{0,5} 7.63.50 \pm 0.50$ et $A_{0,5} 7.61 \pm 0.76 \mu\text{g/mL}$).

D'une autre part, l'extrait **Fan/M** et les fractions **Fan/A** et **Fan/B** de la plante *A. monelli* montrent des pouvoirs réducteurs moyens et inférieurs à ceux de la plante *A. cerastioides* avec des valeurs d' $A_{0,5}$ de l'ordre 20.32 ± 0.22 , 16.24 ± 1.47 et $22.98 \pm 1.75 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

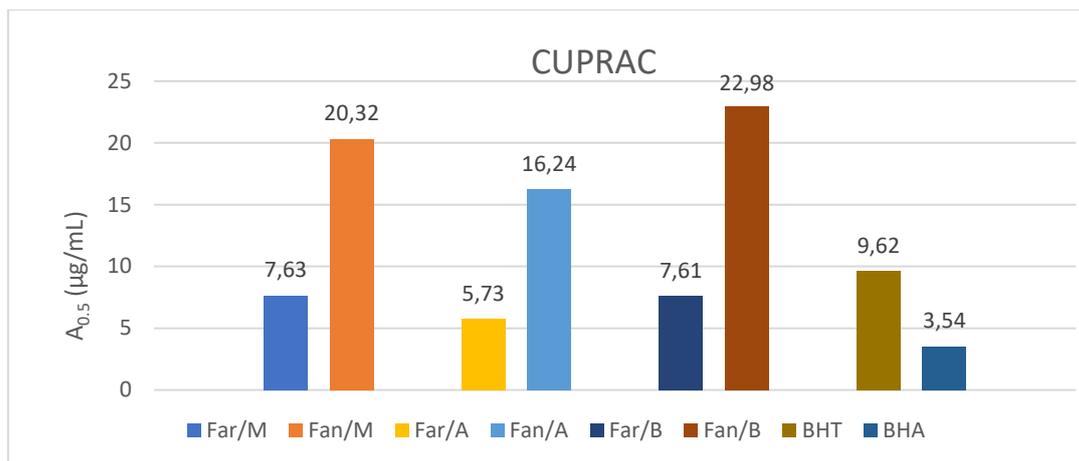


Figure 241 : Histogramme comparatif des valeurs des $A_{0,5}$ des différents extraits de *A. monelli* et *A. cerastioides* testés pour le CUPRAC.

III.3.4. Conclusion

Les extraits **Far/M**, **Far/A** et **Far/B** de la plante *Arenaria cerastioides* et les extraits **Fan/M**, **Fan/A** et **Fan/B** de la plante *Anagallis monelli*, ont été soumis à un criblage systématique pour déterminer leurs activités antioxydantes par l'utilisation de trois méthodes : DPPH, ABTS et CUPRAC. Après les traitements des résultats de chaque extrait nous avons constaté que la fraction **Far/A** de la plante *Arenaria cerastioides* possède l'activité antioxydante la plus élevée par rapport aux standards **BHA** et **BHT** seulement dans la méthode du DPPH, et de ce fait révèle la présence des substances naturelles antiradicalaire.

Conclusion générale

Au cours de ces travaux nous avons présenté une étude phytochimique menée sur les deux espèces *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) de la famille *Primulaceae* et *Arenaria cerastioides* (Poir.) de la famille *Caryophyllaceae*. **26** composés ont été isolés de ces deux espèces dont **13** ont des structures nouvelles. La caractérisation de ces produits a été réalisée par des analyses spectrales basées essentiellement sur les données RMN mono et bidimensionnelles (^1H , ^{13}C , COSY, ROESY, TOCSY, HSQC et HMBC), de la spectrométrie de masse (HR-ESI-MS), mesure du pouvoir rotatoire et sur la comparaison avec les données de la littérature.

L'étude phytochimique portée sur l'espèce d'origine algérienne *Anagallis monelli* a mené à l'isolement et l'élucidation de **23** structures de saponines monodesmosides dont **13** nouvelles possédant un squelette Priverogénine B (**Am 1-2,18**), Anagalligénine B (**Am 3-7, 16 et 17**), Anagalligénone B (**Am 8-9, 22**) Protoprimulagénine A (**Am 14 et 15**), et Hédéragénoaldehyde (**Am 10-13**). Les parties osidiques de ses saponosides sont en accord avec ceux rencontrés dans les saponines des genres *Anagallis*, *Cyclamen* ou *Lysimachia*. La présence de dix-huit saponines triterpéniques de type I (13 β ,28-époxy) et une de type II ($\Delta^{12-17}\text{-CH}_2\text{OH}$), sont un critère chimiotaxonomique important. Les composés de type I sont considérés comme très rares et se trouvent presque exclusivement dans les familles *Myrsinaceae* et *Primulaceae* (Foubert et al., 2008 ; Podolack et al., 2013). Il est intéressant d'observer que les composés connus **14-23** ont été rapportés précédemment dans diverses espèces appartenant aux genres *Anagallis*, *Lysimachia* et *Cyclamen*.

L'investigation phytochimique de la plante entière *Arenaria cerastioides* nous a conduit à l'isolement et à la détermination structurale de **3** flavonoïdes (**Ac 1-3**).

L'évaluation de la capacité antioxydante des extraits obtenus à partir de la plante entière d'*Arenaria cerastioides*, a montré une forte activité en particulier la fraction **Far/A** qui a présenté une excellente activité dans tous les tests (DPPH ; 3.50 ± 0.03 $\mu\text{g/mL}$, ABTS ; 2.05 ± 0.29 $\mu\text{g/mL}$, CUPRAC ; 16.24 ± 0.75 $\mu\text{g/mL}$). Alors que les deux autres extraits **Far/M** et **Far/B** ont réagi d'une manière très proche et ont montré une activité antioxydante relativement plus faible que celle de **Far/A**.

Pour l'espèce *Anagallis monelli*, les fractions ont manifesté une activité antioxydante intéressante dans les trois tests DPPH, ABTS et CUPRAC sur l'extrait **Fan/A** avec des CI_{50} de

40.35±0.95, 11.21±0,56 et 16.24±0,37 µg/mL cela pourrait être dû à la présence aux polyphénols et en particulier au contenu en flavonoides.

En conclusion, ce travail nous a permis de contribuer à la connaissance chimique de deux espèces mais elles demeurent partiellement exploitées et il serait 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.
- Aussi de compléter cette investigation par une étude phytochimique des fractions et sous-fractions qui n'ont pas été purifiées.
- A cause des résultats prometteurs obtenus dans l'étude de l'effet antioxydant par les extraits de l'espèce *Arenaria cerastioides*, il est intéressant de continuer la purification des fractions ainsi que la réalisation d'une étude phytochimique sur sa partie souterraine.

Références bibliographiques

A

- Abdel-Gawad, M. M., El-Amin, S. M., Ohigashi, H., Watanabe, Y., Takeda, N., Sugiyama, H., Kawanaka, M.**, 2000. Molluscicidal saponins from *Anagallis arvensis* against schistosome intermediate hosts. *Japanese journal of infectious diseases*, 53(1), 17-19.
- Agrawal, S. K., Agrawal, M., Sharma, P. R., Ahmad, K., Shahl, A. S., Arora, S., Saxena, A. K.**, 2021. *Anagallis arvensis* induces apoptosis in HL-60 cells through ROS-mediated mitochondrial pathway. *Nutrition and Cancer*, 73(11-12), 2720-2731
- Akbar, S.**, 2020. *Embelia ribes* Burm (*Primulaceae*). In *Handbook of 200 Medicinal Plants*. pp. 883-888
- Akerreta, S., Calvo, M., Caverro, R.**, 2010. Ethnoveterinary knowledge in navarra (Iberian Peninsula). *Journal of ethnopharmacology*, 130(2), 369-378.
- Akerreta, S., Caverro, R. Y., López, V., Calvo, M. I.**, 2007. Analyzing factors that influence the folk use and phytonomy of 18 medicinal plants in Navarra. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 3(1), 1-18.
- Aliotta, G., de Napoli, L., Giordano, F., Piccialli, G., Piccialli, V., Santacroce, C.**, 1992. An oleanane triterpene from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry*, 31(3), 929-933.
- Ali-Shtayeh, M., Yaghmour, M. R., Faidi, Y., Salem, K., Al-Nuri, M.**, 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of ethnopharmacology*, 60(3), 265-271.
- Amoros, M., Girre, R.**, 1987. Structure of two antiviral triterpene saponins from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry*, 26(3), 787-791
- Anne McIntyre, F.** 2005. Herbal treatment of children western and wyurvedic perspectives. *Health Sciences*, pp 26-35.
- Anthony, J. P., Fyfe, L., Smith, H.** 2005. Plant active components a resource for antiparasitic agents. *Trends in parasitology*, 21(10), 462-468.
- Awina, T. M.**, 2014. Isolation and identification of some compounds from *Cyclamen rohlfsianum* (*primulaceae*) from libya. *Chem. Commun*, 4(1), 1-10.

B

- Bączek, K., Przybył, J. L., Mirgos, M., Kosakowska, O., Szymborska-Sandhu, I., Węglarz, Z.**, 2017. Phenolics in *Primula veris* L. and *P. elatior* L. Hill raw materials. *International Journal of Analytical Chemistry*, 7-17.
- Balkau, B., Valensi, P., Eschwège, E., Slama, G.**, 2007. A review of the metabolic syndrome. *Diabetes and metabolism*, 33(6), 405-413.
- Benzie, I. F., Strain, J. J.**, 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bekele, G., Reddy, P. R.**, 2015. Ethnobotanical study of medicinal plants used to treat human ailments by Guji Oromo tribes in Abaya District, Borana, Oromia, Ethiopia. *Universal Journal of Plant Science*, 3(1), 1-8.
- Blois, M. S.**, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C.**, 1995. Antioxidative activity of phenolic composition of commercial extracts of sage and rosemary. *Lwt-Food science and Technology*, 28, 25-30.
- Braithwaite, M. C., Tyagi, C., Tomar, L. K., Kumar, P., Choonara, Y. E., Pillay, V.**, 2014. Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine. *Journal of Functional Foods*, 6, 82-99.

C

- Çaliş, İ., Şatana, M. E., Yürüker, A., Kelican, P., Demirdamar, R., Alaçam, R., Sticher, O., 1997. Triterpene saponins from *Cyclamen mirabile* and their biological activities. *Journal of natural products*, 60(3), 315-318.
- Campos, J. J., Azevedo, A. O., Filho, J. D., Perez, A. C., Braga, F. C., 2013. Bioguided isolation of myricetin-3-O- β -galactopyranoside with antinociceptive activity from the aerial part of *Davilla elliptica* St.-Hil. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 270-274.
- Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Gómez, M. V., Velders, A. H., Hermosín-Gutiérrez, I., 2009. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(1), 209-219.
- Castroviejo, S., 1997. Flora iberica. *Ebenaceae-Saxifragaceae*, Vol. 5 pp 58-60.
- Chang, Z. Y., Gong, W. H., 2005. Chemical constituents from *Arenaria oreophila*. *Guihaia*, 25(3), 278-280.
- Charrouf, Z., Mbark, A. N., Guillaume, D., Kol, O., 1999. New glycosides from *Herniaria fontanesii*. In *Studies in Plant Science*, Vol. 6, pp. 314-319
- Colombo, P. S., Flamini, G., Rodondi, G., Giuliani, C., Santagostini, L., Fico, G., 2017. Phytochemistry of European *Primula* species. *Phytochemistry*, 143, 132-144.
- Cui, Y., Shen, N., Yuan, X., Dang, J., Shao, Y., Mei, L., Tao, Y., Wang, Q., Liu, Z., 2017. Two-dimensional chromatography based on on-line HPLC-DPPH bioactivity-guided assay for the preparative isolation of analogue antioxidant compound from *Arenaria kansuensis*. *Journal of Chromatography B*, 1046, 81-86.

D

- Davidson-Hunt, I., 2000. Ecological ethno botany: stumbling toward new practices and paradigms. *MASA Journal*, 16(1): 1-13.
- Dall'Acqua, S., Castagliuolo, I., Brun, P., Ditadi, F., Palù, G., Innocenti, G., 2010. Triterpene glycosides with in vitro anti-inflammatory activity from *Cyclamen repandum* tubers. *Carbohydrate research*, 345(5), 709-714.
- De Napoli, L., Piccialli, G., Piccialli, V., Santacroce, C., Carolla, R., 1992. Two oleanane triterpenes from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry*, 31(11), 3965-3968.
- De Santayana, M. P., Pieroni, A., Puri, R. K., 2010. *Ethnobotany in the new Europe: people, health, and wild plant resources*, Vol. 14, pp 154-155.
- Diallo, Y., Schlee, G., 2000. L'ethnicité peule dans des contextes nouveaux: la dynamique des frontières. *KARTHALA Editions*, pp 124-144.

E

- Elgamal, M. H. A., Soliman, H. S., Elmunajjed, D. T., Tóth, G., Simon, A., Duddeck, H., 1998. Two triterpene saponins from *Arenaria filicaulis*. *Phytochemistry*, 49(1), 189-193.
- Elgamal, M. H. A., Soliman, H. S., Elmunajjed, D. T., Tóth, G., Simon, A., Duddeck, H., 1997. Structures of Two Novel Triterpene Saponins from *Arenaria filicaulis* Boiss. *Magnetic resonance in chemistry*, 35(9), 637-642.

F

- Foubert, K., Theunis, M., Apers, S., Vlietinck, A. J., Pieters, L., 2008. Chemistry, distribution and biological activities of 13, 28-epoxy-oleanane saponins from the plant families *Myrsinaceae* and *Primulaceae*. *Current Organic Chemistry*, 12(8), 629-642.

G

- Gaidi, G., Miyamoto, T., Lacaille-Dubois, M.-A.**, 2005. An unusual new sulfated triterpene saponin from *Arenaria juncea*. *Die Pharmazie*, 60(8), 635-637.
- Gaidi, G., Miyamoto, T., Lacaille-Dubois, M.-A.**, 2001. Junceosides A– C, New Triterpene Saponins from *Arenaria juncea*. *Journal of natural products*, 64(12), 1533-1537.
- Gairola, S., Gupta, V., Bansal, P., Singh, R., Maithani, M.**, 2010. Herbal antitussives and expectorants a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5(2), 5-9.
- Gallego, M, J.**, 1984, *Arenaria cerastioides* Poiret en España. *Acta Botánica Malacitana*, (9),153-154.
- Glombitza, K. W., Kurth, H.**, 1987a. Saponine aus *Anagallis arvensis* L.(Primulaceae). *Archiv der Pharmazie*, 320(10), 1083-1087.
- Glombitza, K. W., Kurth, H.**, 1987b. The structures of some triterpene saponins from *Anagallis arvensis*. *Planta Medica*, 53 (6), 55-548.
- Gurib-Fakim, A.**, 2006. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

H

- Heitz, S., Billet, D., Raulais, D.**, 1971. Triterpenes d'*Anagallis arvensis* L.(Primulacee). Structure de l'anagalligenone B. *Soc Chim France Bull*, (6), 4-2320.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.**, 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assay, *Journal of Agricultural and Food Chem*, 53, 1841-1856.
- Huang, X, A., Liang, Y, J., Cai, X. L., Feng, X. Q., Zhang, C, H., Fu, L.**, 2009. Four new cytotoxic oligosaccharidic derivatives of 12-oleanene from *Lysimachia heterogenea* Klatt. *Bioorganic and medicinal chemistry letters*, 19(23), 6515-6518.

I

- Ibrahim, A, M., Ghoname, S. I.**, 2018. Molluscicidal impacts of *Anagallis arvensis* aqueous extract on biological, hormonal, histological and molecular aspects of *Biomphalaria alexandrina* snails. *Experimental parasitology*, 192, 36-41.
- Igoli, J. O., Igwue, I. C., Igoli, N. P.**, 2004. Traditional medicinal practices among the Igede people of Nigeria. *Journal of herbs, spices and medicinal plants*, 10(4), 1-10.
- Ishikura, N.**, 1981. Flavonoids in the petal cells of *Anagallis arvensis* coerulea containing a blue crystalline anthocyanin. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 103(5), 469-473.

J

- Jia, Z., Koike, K., Nikaido, T., Ohmoto, T., Ni, M.**, 1994a. Triterpenoid saponins from *Ardisia crenata* and their inhibitory activity on cAMP phosphodiesterase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 42(11), 2309-2314.
- Jia, Z., Koike, K., Ohmoto, T., Ni, M.**, 1994b. Triterpenoid saponins from *Ardisia crenata*. *Phytochemistry*, 37(5), 1389-1396.

K

- Kang, Y, H., Kim, W, H., Park, M, K., Han, B. H.**, 2001. Antimetastatic and antitumor effects of benzoquinonoid AC7-1 from *Ardisia crispa*. *International journal of cancer*, 93(5), 736-740.

- Käsermann, C., Moser, D.**, 1999. *Arenaria gothica* Fiches pratiques pour la conservation. Plantes à fleurs et fougères. *L'environnement pratique. OFEFP. Berne*, 62-63.
- Kawashty, S., El-Garf, I., El-Negoumy, S.**, 1998. Chemosystematics of *Anagallis arvensis* L. (*Primulaceae*). *Biochemical systematics and ecology*, 26(6), 663-668.
- Kim, J., Jin, H. L., Jang, D. S., Jeong, K. W., Choung, S. Y.**, 2018. Quercetin-3-O- α -l-arabinopyranoside protects against retinal cell death via blue light-induced damage in human RPE cells and Balb-c mice. *Food & function*, 9(4), 2171-2183.
- Kitagawa, I., Matsuda, A., Yosioka, I.**, 1972. Saponin and saponenol. VII. Saponenol constituents of five primulaceous plants. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 20(10), 2226-2234.
- Khare, S., Singh, N., Singh, A., Amist, N., Azim, Z., Yadav, R. K.**, 2022. Phytochemicals mitigation of *Brassica napus* by IAA grown under Cd and Pb toxicity and its impact on growth responses of *Anagallis arvensis*. *Journal of Biotechnology*, 343, 83-95.
- Kunchandy, E., Rao, M.**, 1990. Oxygen radical scavenging activity of *curcumin*. *International journal of pharmaceutics*, 58(3), 237-240.

L

- Lei, N., Du, S., Li, L., Zheng, Y, F., Zhang, W.S., Wang, Y, Y.**, 2007. Chemical constituents from a tibetan medicine *Arenaria kansuensis*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 32(10), 918-920.
- Liang, D., Hao, Z. Y., Zhang, G, J., Zhang, Q, J., Chen, R, Y., Yu, D. Q.**, 2011. Cytotoxic triterpenoid saponins from *Lysimachia clethroides*. *Journal of natural products*, 74(10), 2128-2136.
- Li, M., Wu, X, X., Cheng, L.**, 2007. Advances in studies on Tibetan herbal *Arenaria kansuensis*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 11, 1-3.
- López, V., Jäger, A, K., Akerreta, S., Caverro, R. Y., Calvo, M. I.**, 2011. Pharmacological properties of *Anagallis arvensis* L. “scarlet pimpernel” and *Anagallis foemina* Mill. “blue pimpernel” traditionally used as wound healing remedies in Navarra (Spain). *Journal of ethnopharmacology*, 134(3), 1014-1017.

M

- Manns, U., Anderberg, A, A.**, 2011. Biogeography of ‘tropical *Anagallis* (Myrsinaceae) inferred from nuclear and plastid DNA sequence data. *Journal of biogeography*, 38(5), 950-961.
- Manns, U., Anderberg, A, A.**, 2009. New combinations and names in *Lysimachia* (Myrsinaceae) for species of *Anagallis*, *Pelletiera* and *Trientalis*. *Willdenowia*, 39(1), 49-54.
- Mahato, S. B., Sahu, N. P., Roy, S, K., Sen, S.**, 1991. Structure elucidation of four new triterpenoid oligoglycosides from *Anagallis arvensis*. *Tetrahedron*. 47(28), 5215-5230.
- McLaughlin, S., Poo, M.**, 1981. The role of electro-osmosis in the electric-field-induced movement of charged macromolecules on the surfaces of cells. *Biophysical Journal*, 34(1), 85-93.
- Moon, J., Shibamoto, T.**, 2009. Antioxidant assays to plant and food components. *Agric Food Chem*, 57, 1655-1666.
- Murai, Y., Takahashi, R., Kitajima, J., Iwashina, T.**, 2019. New quercetin triglycoside from the leaves of *soybean cultivar* ‘Clark’. *Natural Product Communications*, 14(5), 193-205.

N

- Newell, A. M., Yousef, G. G., Lila, M. A., Ramírez-Mares, M. V., de-Mejia, E. G.**, 2010. Comparative in vitro bioactivities of tea extracts from six species of *Ardisia* and their effect on growth inhibition of HepG2 cells. *Journal of ethnopharmacology*, 130(3), 536-544.
- Norula, J. L., Loiwal, S. D., Rastogi, J. N.**, 1978. Chemical studies of *Anagallis arvensis* seed oil. *Chemical Era*, 14 (10), 7-455.

P

- Pereira, E., Barros, L., Barreira, J. C., Carvalho, A. M., Antonio, A. L., Ferreira, I. C.**, 2016. Electron beam and gamma irradiation as feasible conservation technologies for wild *Arenaria montana* L.: Effects on chemical and antioxidant parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 269-276.
- Pereira, E., Barros, L., Calhela, R. C., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C.**, 2014. Bioactivity and phytochemical characterization of *Arenaria montana* L. *Food & function*, 5(8), 1848-1855.
- Piao, M. J., Kang, K. A., Zhang, R., Ko, D. O., Wang, Z. H., You, H. J., Hyun, J. W.**, 2008. Hyperoside prevents oxidative damage induced by hydrogen peroxide in lung fibroblast cells via an antioxidant effect. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1780(12), 1448-1457.
- Podolak, I., Hubicka, U., Żuromska-Witek, B., Janeczko, Z., Krzek, J.**, 2013. Quantification of Saponins in Different Plant Parts of *Lysimachia* L. Species by validated HPTLC—Densitometric Method. *JPC—Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*, 26, 248-253.
- Pousset, J. L.**, 1989. African medicinal plants: practical use. *Edition Marketing*, 156 pp.
- Poyton, M. F., Sendeki, A. M., Cong, X., Cremer, P. S.**, 2016. Cu²⁺ binds to phosphatidylethanolamine and increases oxidation in lipid membranes. *Journal of the American Chemical Society*, 138(5), 1584-1590.
- 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 agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.

Q

- Quezel, P., Santa, S.** 1962. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 1. *Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris*.
- Quezel, P., Santa, S.** 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2. *Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris*.
- Qiming, H.**, (1994). On the geographical distribution of the *Primulaceae*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2(4), 1-14.

R

- Rastogi, J., Norula, J.**, 1980. Chemical investigations of *anagallis arvensis* flowers. *journal of the indian chemical society*, 57(7), 761-762.
- Rastogi, J., Norula, J.**, 1979. Lacceric acid from *Anagallis arvensis* linn. *Chemical Era*, 15 (10), 10-11.
- 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.

- Roslida, A. H., Fezah, O., Jacyn, J. A., Yeong, L. T.,** 2013. Chemopreventive effect of *Ardisia crispa* hexane fraction on the peri-initiation phase of mouse skin tumorigenesis. *Medical Principles and Practice*, 22.(4), 357-361.
- Roslida, A., Fezah, O., Yeong, L., 2011. Suppression of DMBA/croton oil-induced mouse skin tumor promotion by *Ardisia crispa* root hexane extract. *Asian Pac J Cancer Prev*, 12(3), 665-669.
- Roslida, A., Kim, K.,** 2008. Anti-inflammatory and anti-hyperalgesic effects of *Ardisia crispa* Thunb. DC. *Pharmacognosy Magazine*, 4(16), 262.

S

- Saboora, A., Sajjadi, S.-T., Mohammadi, P., Fallahi, Z.,** 2019. Antibacterial activity of different composition of aglycone and glycosidic saponins from tuber of *Cyclamen coum* Miller. *Industrial Crops and Products*, 140, 111662.
- Saleem, H., Zengin, G., Locatelli, M., Abidin, S. A. Z., Ahemad, N.,** 2021. Investigation of phytochemical composition and enzyme inhibitory potential of *Anagallis arvensis* L. *Natural product research*, 1-6.
- Saqib, F., Janbaz, K. H.,** 2021. Ethnopharmacological basis for folkloric claims of *Anagallis arvensis* Linn.(Scarlet Pimpernel) as prokinetic, spasmolytic and hypotensive in province of Punjab, Pakistan. *Journal of ethnopharmacology*, 267, 113634.
- Saxena, P., Sonwani, S., Gupta, A. K.,** 2021. Pharmacological and Phytochemical Assessment of *Anagallis arvensis* L. Leaf Extracts. *Asian Journal of Chemistry*, 33(9), 2150-2156.
- Sharma, S., Sharma, R. K., Gupta, K. C.,** 1991. Sterols and fatty acids composition of leaves of *Anagallis arvensis* Linn. *Indian Drugs*, 28(11), 8-527.
- Shoji, N., Umeyama, A., Yoshikawa, K., Arihara, S.,** 1994a. Structures of anagallosaponins IV and their companion substances from *Anagallis arvensis* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 42(9), 1750-1755.
- Shoji, N., Umeyama, A., Yoshikawa, K., Arihara, S.,** 1994b. Triterpenoid glycosides from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry*, 37(5), 1397-1402.
- Singh, S., Farswan, M., Ali, S., Afzal, M., Al-Abbasi, F. A., Kazmi, I., Anwar, F.,** 2014. Antidiabetic potential of triterpenoid saponin isolated from *Primula denticulate*. *Pharmaceutical Biology*, 52(6), 750-755.
- Sukito, A., Tachibana, S.,** 2014. Isolation of hyperoside and isoquercitrin from *Camellia sasanqua* as antioxidant agents. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 17(8), 999-1006.

T

- Tian, J. K., Xu, L. Z., Zou, Z. M., Yang, S. L.,** 2006. Three novel triterpenoid saponins from *Lysimachia capillipes* and their cytotoxic activities. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 54(4), 567-569.
- Timité, G., Mitaine-Offer, A.-C., Miyamoto, T., Tanaka, C., Mirjolet, J.-F., Duchamp, O., Lacaille-Dubois, M.-A.,** 2011). Unusual oleanane-type saponins from *Arenaria montana*. *Phytochemistry*, 72(6), 503-507.
- Tóth, G., Simon, A., Elgamal, M. H. A., Soliman, H. S., Elmunajjed, D. T., Horváth, G., Duddeck, H.,** 1998. Structure of a further triterpene saponin from *Arenaria filicaulis* Boiss. *Magnetic resonance in chemistry*, 36(5), 376-380.

V

Vance, J. E., Tasseva, G., 2013. Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1831(3), 543-554.

Valdes, B., Talavera, S., Fernandez-Galiano, E., 1987. Flora Vasculare de Andalucía Occidental. *Ketres editora*. vol.1.pp 465.

Véla, E., Auda, P., Léger, J.-F., Gonçalves, V., Baumel, A., 2008. Exemple d'une nouvelle évaluation du statut de menace suivant les critères de l'UICN version 3.1. le cas de l'endémique provençale *Arenaria provincialis* Chater & Halliday (*Caryophyllaceae*). *Acta Botanica Gallica*, 155(4), 547-562.

Vermeersch, M., Foubert, K., Luz, R. I. d., Puyvelde, L. V., Pieters, L., Cos, P., Maes, L., 2009. Selective antileishmania activity of 13, 28-epoxy-oleanane and related triterpene saponins from the plant families Myrsinaceae, *Primulaceae*, *Aceraceae* and *Icacinaeae*. *Phytotherapy Research*, 23(10), 1404-1410.

X

Xu, B., Lei, N., 2015. Antioxidant bioactivity of *Arenaria kansuensis* extracts in vitro. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 21, 61-64.

W

Wu, F. E., Koike, K., Nikaido, T., Ishii, K., Ohmoto, T., Ikeda, K., 1990. Terpenoids and flavonoids from *Arenaria kansuensis*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 38(8), 2281-2282.

Wu, X. X., Huang, Q. I., Xie, J. X., Hu, Q. F., 2012. Chemical Constituents in *Arenaria densissima*. *Journal of Yunnan University of Nationalities (Natural Sciences Edition)*, 21(5), 303-315.

Wu, X. X., Li, M., Zhang, Q., Cheng, L., 2013. Chemical constituents from *Arenaria polytrichoides*. *Chemical Research and Application*, 25(3), 333-335.

Y

Yamada, Y., Hagiwara, K., Iguchi, K., Suzuki, S., Hsu, H., 1978. Isolation and structures of arvenins from *Anagallis arvensis* L. (*Primulaceae*). New cucurbitacin glucosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 26(10), 3107-3112.

Yamada, Y., Hagiwara, K., Iguchi, K., Suzuki, S. 1977. Structures of arvenin I and II, bitter principles from *Anagallis arvensis* L. (*primulaceae*). New cucurbitacin glucosides. *Tetrahedron Letters*, 18(24), 2099-2102.

Z

Zaima, K., Deguchi, J., Matsuno, Y., Kaneda, T., Hirasawa, Y., Morita, H., 2013. Vasorelaxant effect of FR900359 from *Ardisia crenata* on rat aortic artery. *Journal of natural medicines*, 67(1), 196-201.

Zhang, Z., ElSohly, H. N., Li, X. C., Khan, S. I., Broedel, S. E., Rauli, R. E., Walker, L. A., 2003. Phenolic Compounds from *Nymphaea odorata*. *Journal of natural products*, 66(4), 548-550.

Zhou, Guan-Shen, Ma, X.-L., Zeng, K.-W., Tu, P.-F., Jiang, Y., 2013. Inhibitory activity of chemical constituents from *Arenaria serpyllifolia* on nitric oxide production. *Planta medica*, 79(08), 687-692.

Zhou, L., 1996. On the geographical distribution of *Arenaria* L. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 34(3), 229-241.

Références web

[1] <https://www.who.int/fr/news/item/25-03-2022-who-establishes-the-global-centre-for-traditional-medicine>

[2] www.informationsdocuments.com/environnement/coppermine15x/displayimage.php

[3] www.gbif.org/species/8330627

[4] www.tropicos.org/NameSearch.aspxexact=true&name=arenaria+cerastioides

Annexe

Caractéristiques des composés isolés Composés isolés d'*Anagallis monelli*

Saponoside Am 1

3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2) β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3β,16α,22α-triol

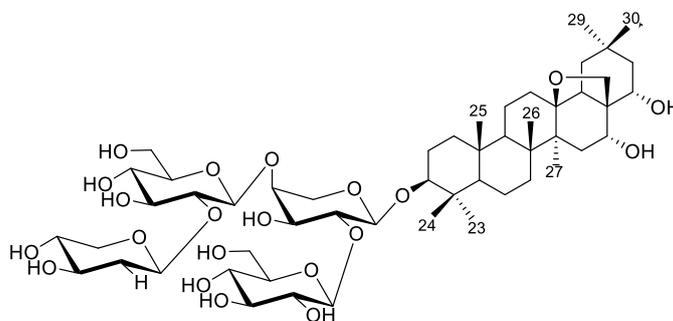
(Monelloside A)

Formule brute : C₅₂H₈₅O₂₂

[α]²⁰_D : -9.5 (c 0.1, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1061.5537 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 1** dans CD₃OD (Tableau 23, page 86).



Saponoside Am 2

3-*O*-β-D- glucopyranosyl-(1 → 4)[β-D-xylopyranosyl-(1 → 2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D- glucopyranosyl-(1 → 2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3β,16α,22α-triol

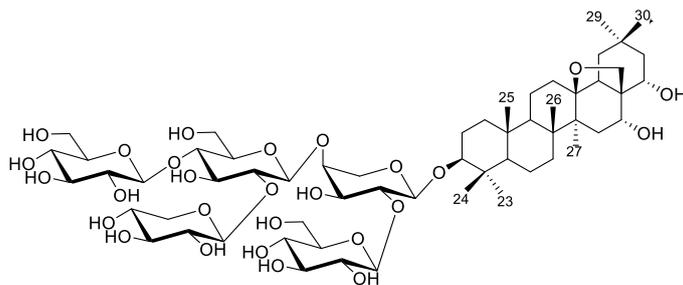
(Monelloside B)

Formule brute : C₅₈H₉₅O₂₇

[α]²⁰_D : -3.0 (c 0.1, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1223.6071 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 2** dans CD₃OD (Tableau 24, page 98).



Saponoside Am 3

3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[6-acétyl-β-D- glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3β,16α,22α-triol

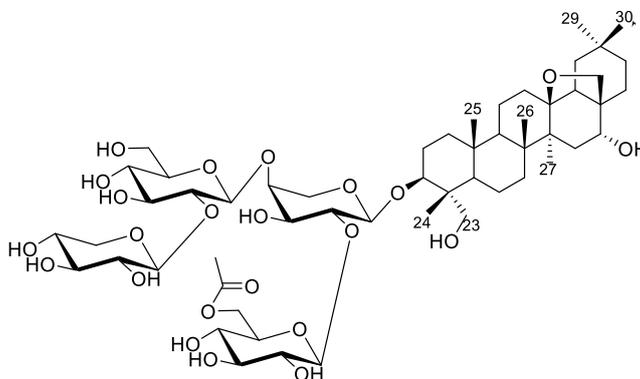
(Monelloside C)

Formule brute : C₅₄H₈₇O₂₃

[α]²⁰_D : -0.9 (c 0.2, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1103.5629 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 3** dans CD₃OD (Tableau 25, page 108).



Saponoside Am 4

3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)[β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-méthoxyoléanan-3β,16α,23α-triol

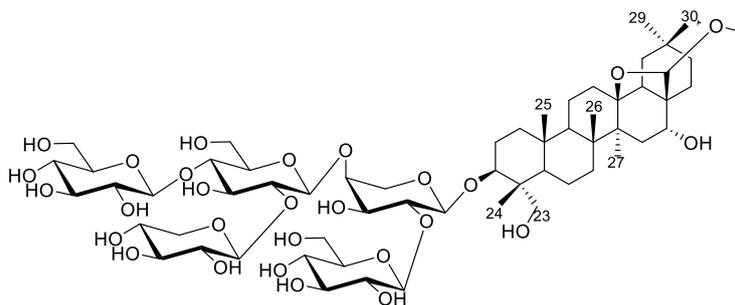
(Monelloside D)

Formule brute : C₅₉H₉₇O₂₈

[α]²⁰_D : 3.21 (c 0.28, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1253.6169 [M-H]⁻

RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 4** dans CD_3OD (Tableau 26, page 117).



Saponoside Am 5

3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-méthoxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol

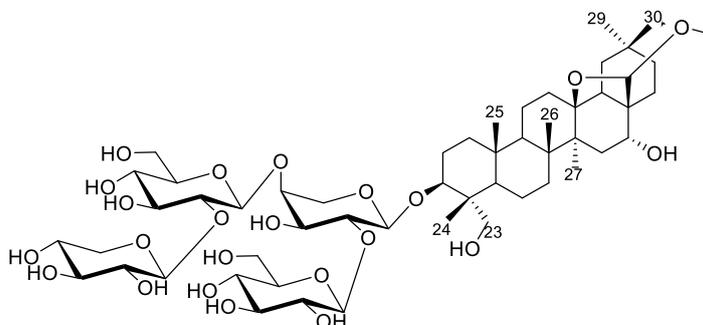
(Monelloside E)

Formule brute : $\text{C}_{53}\text{H}_{87}\text{O}_{23}$

$[\alpha]^{20}_{\text{D}}$: 12.8 (*c* 0.25, MeOH)

HR-ESI-MS : m/z 1091.5646 $[\text{M}-\text{H}]^-$

RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 5** dans CD_3OD Tableau 27, page 118).



Saponoside Am 6

3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-butoxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol

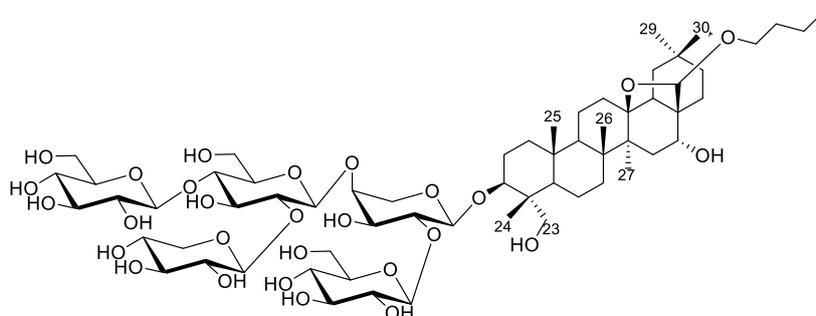
(Monelloside F)

Formule brute : $\text{C}_{62}\text{H}_{103}\text{O}_{28}$

$[\alpha]^{20}_D$: 1.3 (*c* 0.15, MeOH)

HR-ESI-MS : m/z 1133.6107 $[M-H]^-$

RMN 1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 6** dans CD_3OD (Tableau 28, page 130).



Saponoside Am 7

3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxy-28-butoxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol

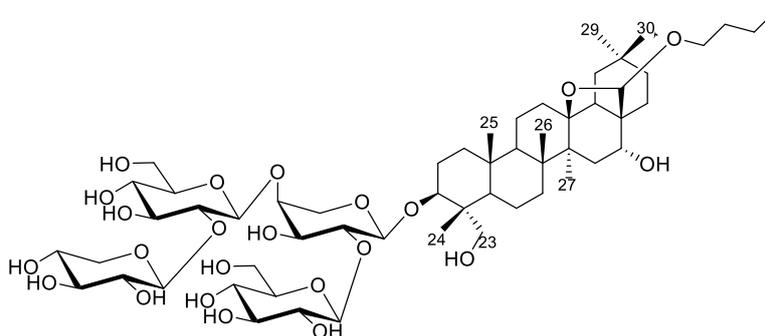
(Monelloside G)

Formule brute : $C_{56}H_{93}O_{23}$

$[\alpha]^{20}_D$: 10.0 (*c* 0.11, MeOH)

HR-ESI-MS : m/z 1133.6107 $[M-H]^-$

RMN 1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) du saponoside **Am 7** dans CD_3OD (Tableau 29, page 131).

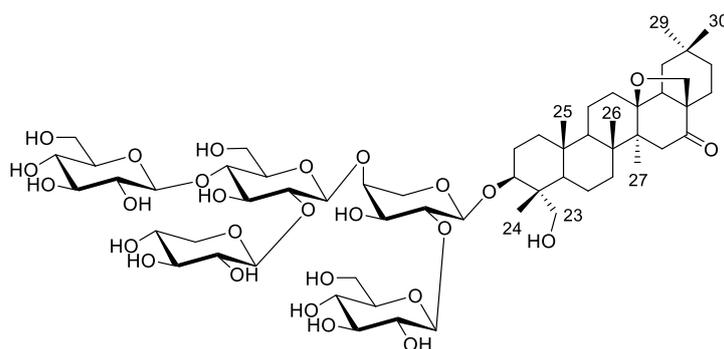


Saponoside Am 8

3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinoside-13,28-époxy-3 β ,23 α -dihydroxyoléanan-16-one

(Monelloside H)**Formule brute :** C₅₈H₉₃O₂₇**[α]²⁰_D :** -9.28 (c 0.14, MeOH)**HR-ESI-MS :** *m/z* 1221.5913 [M-H]⁻

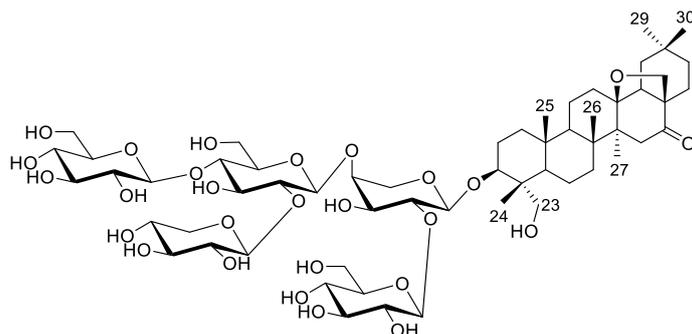
RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 8** dans CD₃OD (Tableau 30, page 141).

**Saponoside Am 9**

3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)[β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxy-3β,23α-dihydroxyoléanan-16-one

(Monelloside I)**Formule brute :** C₅₂H₈₃O₂₂**[α]²⁰_D :** -5.45 (c 0.11, MeOH)**HR-ESI-MS :** *m/z* 1059.5370 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 9** dans CD₃OD (Tableau 31, page 142).



Saponoside Am 10

3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)[β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-3β,16α,23α-trihydroxyoléan-12-èn-28-al

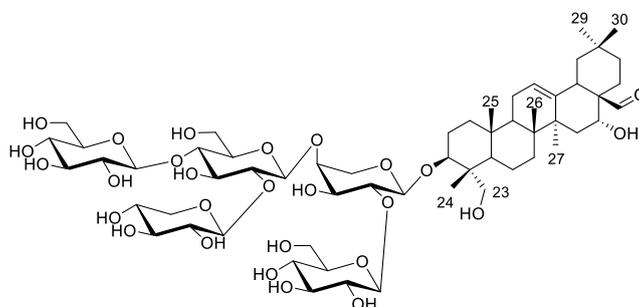
(Monelloside J)

Formule brute : C₅₈H₉₃O₂₇

[α]²⁰_D : 15.71 (*c* 0.14, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1221.5911 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) du saponoside **Am 10** dans CD₃OD (Tableau 32, page 154).

**Saponoside Am 11**

3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-3β,16α,23α-trihydroxyoléan-12-èn-28-al

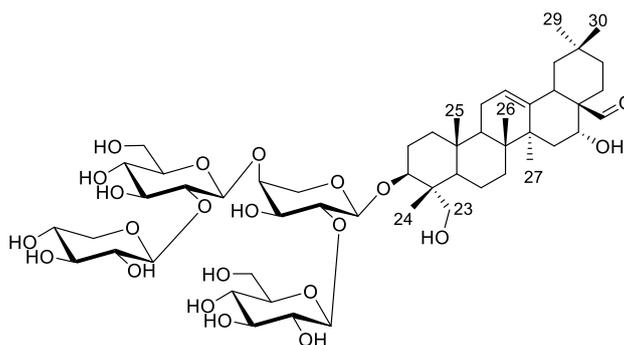
(Monelloside K)

Formule brute : C₅₂H₈₃O₂₂

[α]²⁰_D : -1.2 (*c* 0.25, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1059.5367 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 11** dans CD₃OD (Tableau 33, pages 169).



Saponoside Am 12

3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-3β,16α,23α-trihydroxyolean-12-èn-28-al

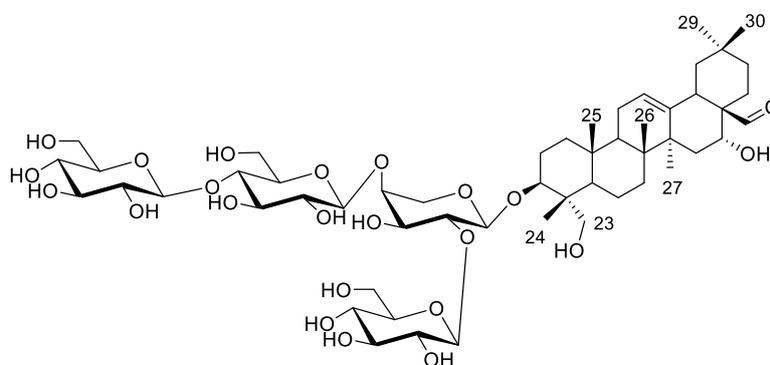
(Monelloside L)

Formule brute : C₅₃H₈₅O₂₃

[α]²⁰_D : -1.66 (*c* 0.12, MeOH)

HR-ESI-MS : *m/z* 1089.5490 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 12** dans CD₃OD (Tableau 34, pages 169).



Saponoside Am 13

3-*O*- β - D-glucopyranosyl- (1→4) [β-D-glucopyranosyl(1→2)]-α- L-arabinopyranoside-3β,16α,23α-trihydroxyoléan-12-èn-28-al

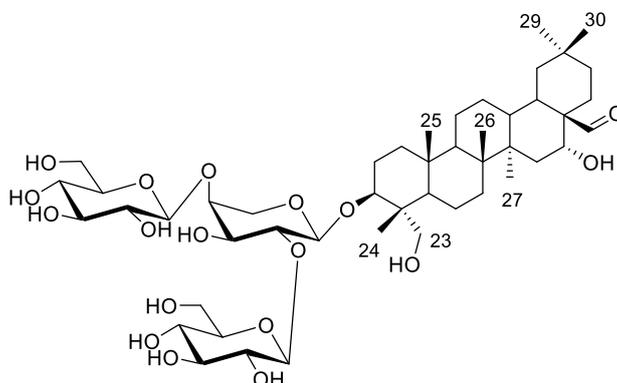
(Monelloside M)

Formule brute : C₄₇H₇₅O₂₈

[α]²⁰_D : 2.5 (*c* 0.12, MeOH)

HR-ESI-MS : m/z 927.4966 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 13** dans CD₃OD (Tableau 35, pages 170).



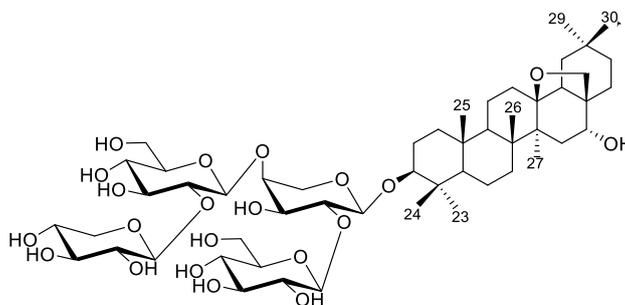
Saponoside Am 14

3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3β,16α-diol

(deglucocyclamin)

Formule brute : C₄₃H₆₈O₂₃

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 14** dans CD₃OD (Tableau 36, page 175).



Saponoside Am 15

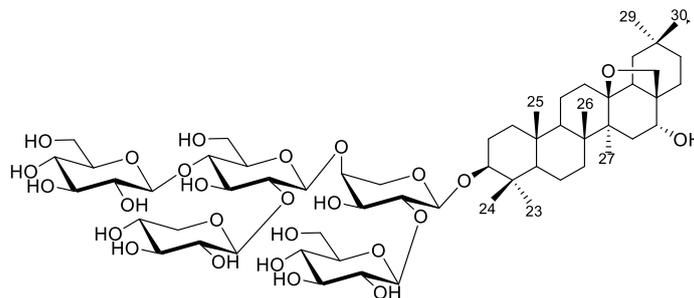
3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)[β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanana-3β,16α-diol

(repandoside)

Formule brute : C₅₈H₉₆O₂₆

HR-ESI-MS : m/z 1207.6112 [M-H]⁻

RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 15** dans CD_3OD (Tableau 37, page 180).



Saponoside Am 16

à 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan- 3 β ,16 α ,23 α -triol

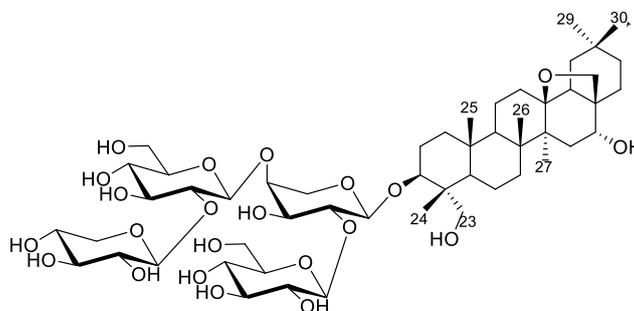
(desgluconagalloside B)

Formule brute : $\text{C}_{52}\text{H}_{86}\text{O}_{28}$

$[\alpha]^{20}_{\text{D}}$: 2.5 (*c* 0.12, MeOH)

HR-ESI-MS : m/z 1061.0 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$

RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 16** dans CD_3OD (Tableau 38, page 185).



Saponoside Am 17

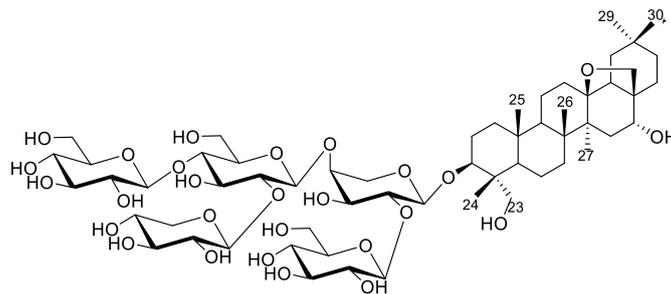
3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-13,28-époxyoléanan-3 β ,16 α ,23 α -triol

(anagallosid B)

Formule brute : $\text{C}_{58}\text{H}_{96}\text{O}_{27}$

HR-ESI-MS : m/z 1223.0 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$

RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 17** dans CD_3OD (Tableau 39, page 190).



Saponoside Am 18

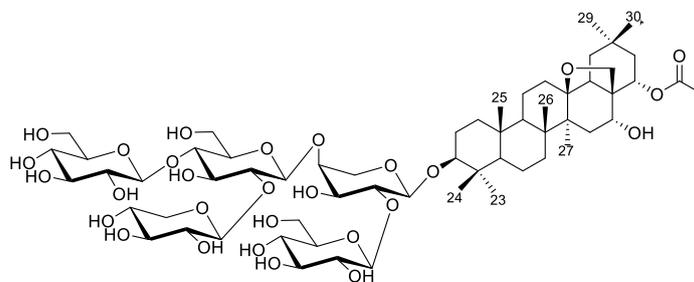
3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-22-acétyl-13,28-époxyoléanan- 3 β ,16 α ,22 α -triol

(Anagallosid C)

Formule brute : $\text{C}_{60}\text{H}_{98}\text{O}_{28}$

HR-ESI-MS : m/z 1265.0 [M-H] $^-$

RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am18** dans CD_3OD (Tableau 40, page 195).



Saponoside Am 19

3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside-22-acétyl-13,28-époxyoléanan- 3 β ,16 α ,22 α ,23 α -tétraol

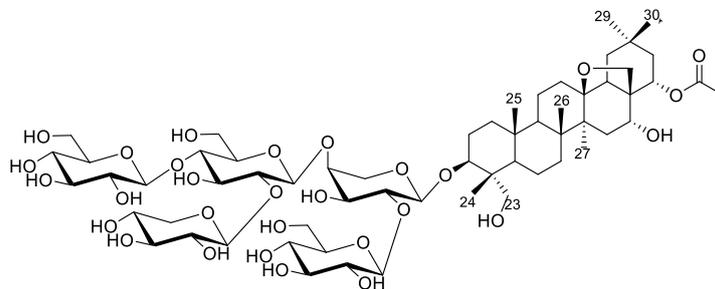
(Anagallosaponin IX)

Formule brute : $\text{C}_{60}\text{H}_{98}\text{O}_{29}$

$[\alpha]^{20}_{\text{D}}$: -14.3° (c 1.6, MeOH)

HR-ESI-MS : m/z 1281.0 $[M-H]^-$

RMN 1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 19** dans CD_3OD (Tableau 41, page 200).



Saponoside Am 20

3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4) -[β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinoside-13,28-epoxy- (3 β , 16 α , 22 α , 28 β)-tetrahydroxy oleanan

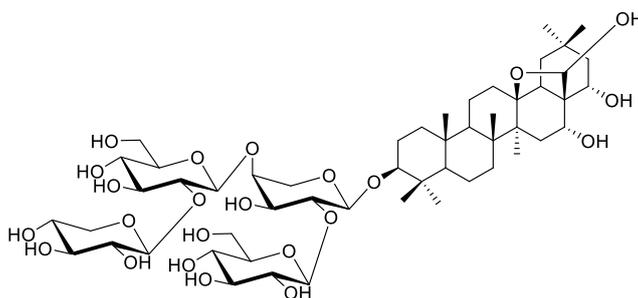
(capilliposide A)

Formule brute : $C_{52}H_{86}O_{23}$

$[\alpha]^{20}_D$: -26.7° (c 0.5, MeOH)

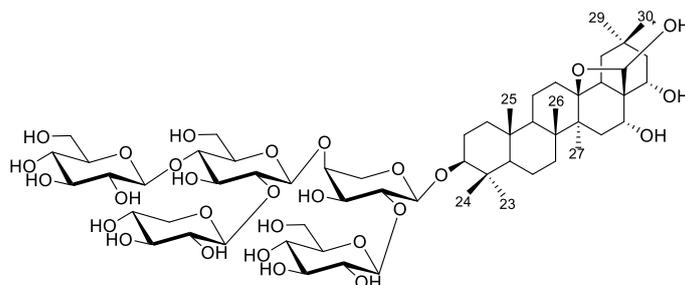
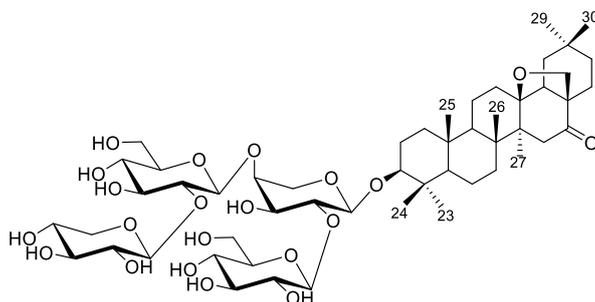
HR-ESI-MS : m/z 1177.0 $[M-H]^-$

RMN 1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de saponoside **Am 20** dans CD_3OD (Tableau 42, page 210).



Saponoside Am 21

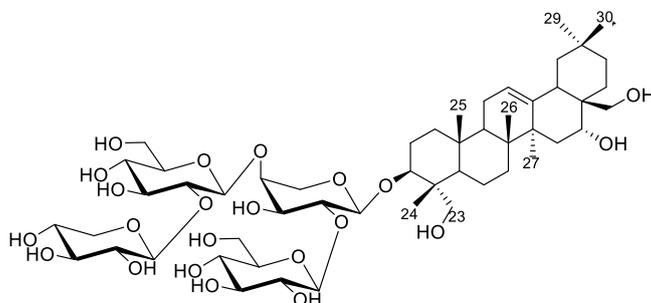
3-*O*- β -D- {glucopyranosyl(1 \rightarrow 4) [β -D-xymopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinoside-13,28-epoxy- (3 β , 16 α , 22 α , 28 β)-tetrahydroxy oleanane

(Anagallosaponin II)**Formule brute :** C₅₄H₈₈O₂₅**HR-ESI-MS :** m/z : 1135.0 [M-H]⁻RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 21** dans CD₃OD (Tableau 43, page 211).**Saponoside Am 22**3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-13,28-époxy-3β,23α-dihydroxyoléan-16-one**(Clethroidoside D)****Formule brute :** C₆₀H₉₈O₂₉**[α]²⁰_D :** -14.3° (c 1.6, MeOH)**HR-ESI-MS :** m/z 1281.0 [M-H]⁻RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 22** dans CD₃OD (Tableau 44, page 216).**Saponoside Am 23**3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside-oléan-12-èn-3β,16α,23α,28-tétraol**(Heterogenosides D)**

Formule brute : C₅₂H₈₆O₂₂

HR-ESI-MS : *m/z* 1114.0 [M-H]⁻

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de saponoside **Am 23** dans CD₃OD (Tableau 45, page 222).



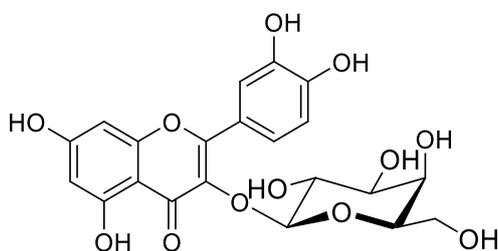
Composés isolés d'*Arenaria cerastioides* Poir.

Flavonoïde Ac 1

Quercétine 3-O-β-D-galactopyranoside

Formule brute : C₂₁H₂₀O₁₂

RMN ¹H (600 MHz) et ¹³C (150 MHz) de (Tableau 46, page 228).

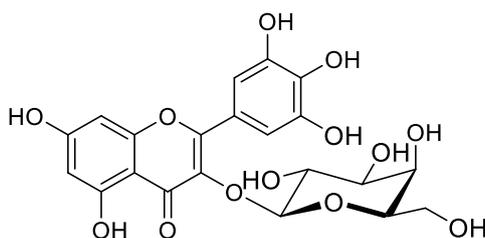


Flavonoïde Ac 2

Myricétine 3-O-β-D-galactopyranoside

Formule brute : C₂₁H₂₀O₁₃

RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) (Tableau 47, page 233).

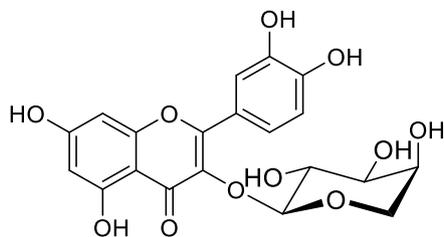


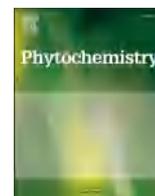
Flavonoïde Ac 3

Quercétine 3-*O*- α -L--arabinopyranoside

Formule brute : C₂₀H₁₈O₁₁

RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) (Tableau 48, page 237).





Triterpenoid saponins from *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) Maire and their chemotaxonomic significance

Chouaib Aouane^{a,b}, Ahmed Kabouche^a, Laurence Voutquenne-Nazabadioko^{b,*},
Charlotte Sayagh^b, Agathe Martinez^b, Abdulmagid Alabdul Magid^b, Zahia Kabouche^a

^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 de Reims Champagne Ardenne, CNRS, ICMR UMR 7312, 51097, Reims, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Anagallis monelli
Primulaceae
Triterpenoid saponins
Chemotaxonomy

ABSTRACT

Thirteen undescribed triterpenoid saponins named monellosides A-M, were isolated from the aerial parts of *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) Maire, together with ten known oleanane-type glycosides. Their structures were elucidated by 1D and 2D-NMR spectroscopy (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC and ROESY) as well as high resolution mass spectrometry (HR-ESI-MS) and acid hydrolysis. Monellosides A-M have a carbohydrate chain linked on the C-3 of the aglycone with a common β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-arabinopyranosyl sequence which was further glycosylated by a glucose and/or a xylose. The sequence β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] α -L-arabinopyranosyl was common to all the 13,28-epoxy-oleanane core skeleton except one compound. In order to discuss the reclassification of *Anagallis* in Primulaceae, we compared saponins from species of Myrsinaceae and Primulaceae families and showed that these species were characterized by a pentacyclic triterpenoid saponin with a 13,28-epoxy bridge skeleton. Our phytochemical results increase the knowledge of saponins of the genus *Anagallis*, their chemotaxonomy and stimulate the evaluation of the biological activities of these saponins.

1. Introduction

The genus *Anagallis* currently belongs to the Primulaceae family, although recent studies based on DNA sequences of three chloroplast genes and morphology have suggested its placement in the Myrsinaceae as *Lysimachia* (Källersjö et al., 2000; Manns and Anderberg, 2009 and 2011). *Anagallis* contained about 28 species growing as mainly annual herbs, distributed in Africa, Madagascar, Europe and South America. This genus is represented in Algeria by four species *A. arvensis* L., *A. monelli* L., *A. repens* Pomel. and *A. enella* L. (Quezel and Santa, 1963). The plant *Anagallis monelli* is an endemic herb from North Africa and is represented in Algeria by two different subspecies, *Anagallis monelli* ssp. *collina* (Schousb.) Maire and *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) Maire (Quezel and Santa, 1963). Among the studied species of the genus *Anagallis*, *A. arvensis* and *A. foemina* have been used in traditional medicine in Navarre (Spain) against skin injuries like burns and wounds (López et al., 2011). The whole plant of *A. arvensis* has been used for liver complications in Taiwan, for skin diseases in Italy and for fish

poisoning in rural areas of Nepal (Yasmeen et al., 2020). Chemical investigations on *Anagallis* spp. have been mainly characterized by the presence of saponins (Aliotta et al., 1992; Amoros and Girre, 1987; Glombitza and Kurth, 1987a and b; Shoji et al., 1994a and b; Soberón et al., 2017), pentacyclic triterpenes (Aliotta et al., 1992; De Napoli et al., 1992; Heitz et al., 1971), flavonoids and polyphenols (Ammar et al., 2008; Ishikura, 1981; Kawashty et al., 1998; Rastogi and Norula, 1980), sterols (Rastogi and Norula, 1980), in addition to alkaloids and quinones (Saxena and Rao, 2021). Triterpenoid saponins were found in a wide variety of higher plants and display a wide range of pharmacological activities, including haemolytic, expectorant, anti-inflammatory, hypolipidemic, gastroprotective, immunomodulatory and antimicrobial properties (Netala et al., 2015; Podolak et al., 2010). The potential anticancer activity of saponins has been suggested by their cytotoxic, cytostatic, pro-apoptotic and anti-invasive effects (Koczurkiewicz et al., 2015). The 13,28-epoxy-oleanane type saponins from the plant families Myrsinaceae and Primulaceae show also a wide range of biological activities such as cytotoxic activities (Foubert et al., 2008; Podolak et al.,

* Corresponding author. faculte de Pharmacie, 51100, Reims, France.

E-mail address: laurence.voutquenne@univ-reims.fr (L. Voutquenne-Nazabadioko).

<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113305>

Received 14 March 2022; Received in revised form 13 June 2022; Accepted 28 June 2022

Available online 7 July 2022

0031-9422/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

2013).

Anagallis monelli ssp. *linifolia* (L.) Maire [Synonym of *Anagallis monelli* L.], also known under the synonym *Lysimachia monelli* (L.) U. Mann and Anderb, is a herbaceous, perennial herb. The 8–60 cm long stems are woody at the base. The leaves are opposite. The flowers in the axils of the upper leaves are carried by pedicels of 12–40 mm, opposite or in 3 veinlets, longer than the leaves. The lobes of the calyx of 3.6–7 mm, are lanceolate, with a scarious margin, sometimes finely serrated (Valdes et al., 1987). In this work, we have studied the chemical profile of *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* and isolated 13 undescribed triterpenoid saponins, namely monellosides A–M (1–13) and ten known triterpenoid saponins (14–23). The chemophenetic significance of the isolated

saponins was discussed by comparing saponins from other Primulaceae species.

2. Results and discussion

2.1. Isolation and structural elucidation

The 70% EtOH extract from the aerial parts of *A. monelli* ssp. *linifolia* was sequentially partitioned with EtOAc and *n*-BuOH, respectively. The *n*-BuOH soluble fraction was subjected to a Diaion HP-20 resin chromatography to give three fractions (A–C). The saponin-containing fraction (C), was subjected to further column chromatography to give ten

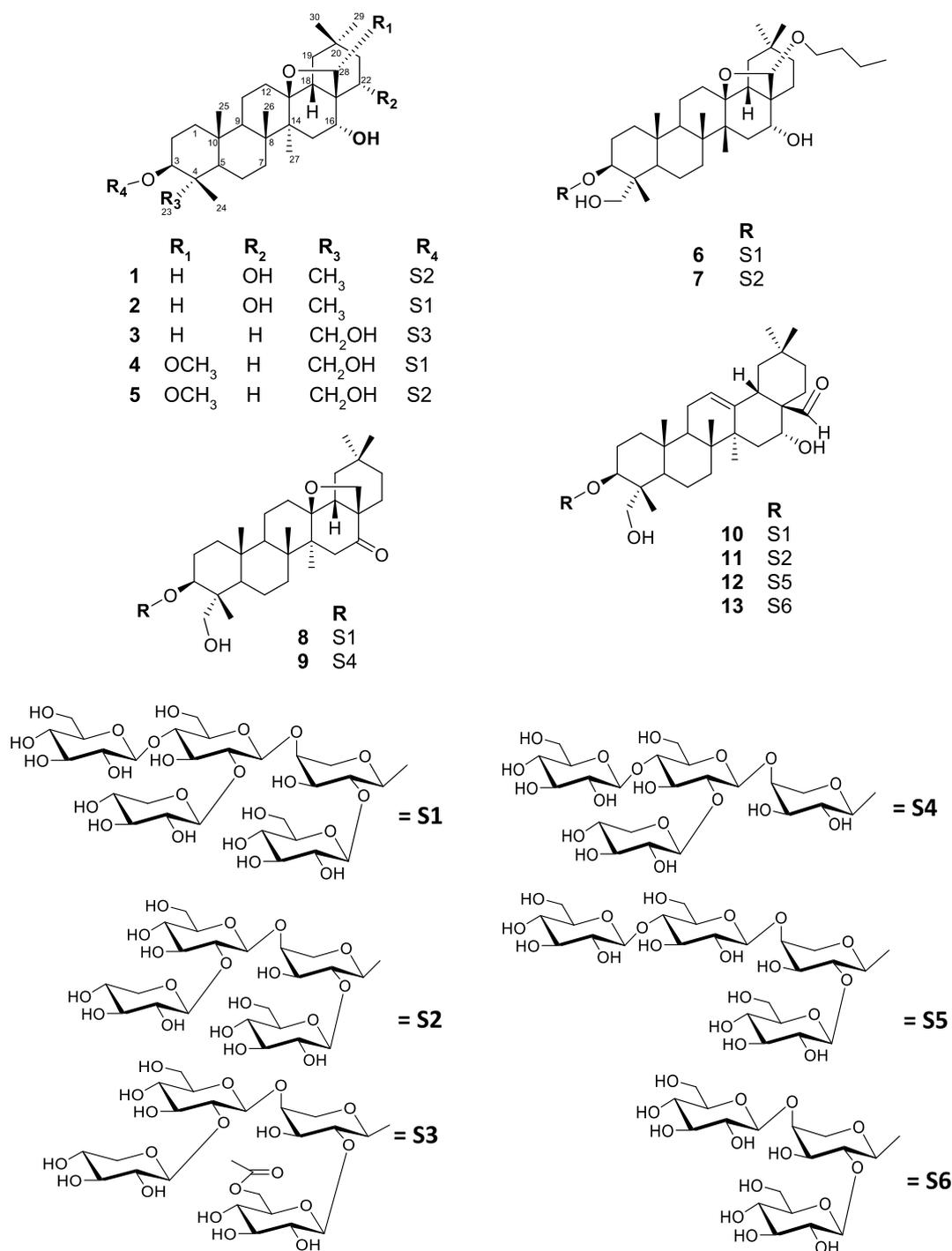


Fig. 1. Structures of compounds 1–13 isolated from *Anagallis monelli* ssp. *Linifolia*.

known compounds and thirteen undescribed saponins named monellosides A-M (1–13) (Fig. 1). Their structures were elucidated by NMR techniques (^1H , ^{13}C , COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, and HMBC) and mass spectrometry (HR-ESI-MS) and by comparison with literature data. The monosaccharides of monellosides A-M (1–13) obtained by acid hydrolysis of an aliquot of the saponin-containing fraction (C) were identified as L-arabinose, D-glucose and D-xylose by comparison on TLC with authentic samples followed by measurement of their optical rotation values after purification on TLC.

Compound 1 was obtained as an amorphous white powder. Its molecular formula was determined as $\text{C}_{52}\text{H}_{86}\text{O}_{22}$ based on the negative-ion HR-ESI-MS (1061.5537 [M-H] $^-$, calcd 1061.5532). The ^1H NMR data (Table 1) showed the presence of seven signals corresponding to the tertiary methyls at δ_{H} 1.28, 1.17, 1.08, 1.00, 0.98, 0.92 and 0.87 giving correlations with seven carbons signals in the HSQC spectrum at δ_{C} 18.7 (C-27), 17.4 (C-26), 27.0 (C-23), 32.3 (C-29), 24.6 (C-30), 15.3 (C-25) and 15.3 (C-24), respectively. In addition, the HSQC spectrum showed correlations at δ_{H} 4.33 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-16)/ δ_{C} 69.8 (C-16), δ_{H} 3.16 (1H, dd, $J = 11.7, 4.3$ Hz, H-3)/90.0 (C-3) and δ_{H} 3.74 (1H, dd, $J = 11.6, 4.9$ Hz, H-22)/ δ_{C} 74.2 (C-22). Furthermore, a quaternary carbon signal at δ_{C} 86.9 due to C-13 was linked to an oxygenated methylene at δ_{H} 3.67

(m, H₂-28) in the HMBC spectrum (Aliotta et al., 1992). HMBC spectrum showed also correlations from H₂-28 and H-18 [δ_{H} 1.47 (1H, dd, $J = 14.0, 2.5$ Hz)] to two oxygenated methines at δ_{C} 69.8 (C-16) and δ_{C} 74.2 (C-22) and from H-3 (δ_{H} 3.16) to carbons at δ_{C} 27.0 (C-23), 15.3 (C-24) and a quaternary carbon at δ_{C} 39.2 (C-4) (Fig. 2). Taken together, these data were indicative of a 13,28-epoxy-16,22-dihydroxyoleanan skeleton (priverogenin B) (Kitagawa et al., 1972; Yosioka et al., 1967). This assumption was confirmed by detailed analysis of the COSY, ROESY, HSQC and HMBC spectra which allowed the full assignment of the proton and carbon resonances of the aglycone (Table 1). Correlations observed between H-3/H-5 and H-5/H-9 in the ROESY spectrum indicated their α -axial orientation and thus the β -orientation of the oxygen at C-3 (Aliotta et al., 1992). The 16 α -configuration of hydroxyl group was evident from the small coupling constant $^3J_{\text{H-16/H-15}}$ value ($J = 5$ Hz), characteristic of an equatorial H-16 proton (Lebbili et al., 2018), which was confirmed by the correlations from H-16/H-15_{ax} and H-16/H₃-26 β -oriented in the ROESY spectrum. In the same fashion, the coupling constants of H-22 at δ_{H} 3.74 (1H, dd, $J = 11.6, 4.9$ Hz) indicated its axial orientation which was confirmed by the correlations H-22/H-30 and H-22/H-28 in the ROESY spectrum; leading to the α -orientation of the oxygen at C-22 (Aliotta et al., 1992).

Table 1

^{13}C NMR and ^1H NMR spectroscopic data of aglycone moieties for compounds 1–5 in $\text{CD}_3\text{OD}^{\text{a,b}}$.

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	38.8	0.98 m 1.77 m	38.8	0.97 m 1.77 m	38.5	0.95 m 1.75 m	38.6	0.96 m 1.77 m	38.6	0.96 m 1.77 m
2	25.8	1.76m 1.88m	25.8	1.76 m 1.87 m	25.3	1.77 t (12.5) 1.88 m	25.2	1.80 m 1.89 m	25.2	1.80 m 1.89 m
3	90.0	3.16 dd (11.7, 4.3)	90.0	3.16 dd (11.7, 4.3)	81.9	3.58 dd (11.9, 4.7)	82.5	3.62 m	82.5	3.62 m
4	39.2	–	39.2	–	42.9	–	42.9	–	42.9	–
5	55.4	0.74 dd (9.4, 4.5)	55.4	0.74 dd (11.3, 2.8)	46.4	1.19 m	46.8	1.17 dd (9.9, 2.7)	46.8	1.17 dd (9.9, 2.7)
6	17.4	1.47 m 1.54 m	17.3	1.46 m 1.54 m	16.8	1.41 m 1.45 m	16.9	1.42 m 1.46 m	16.9	1.42 m 1.46 m
7	33.7	1.26 t (13.4) 1.56 m	33.7	1.25 m 1.56 m	33.2	1.19 m 1.67 td (13.2, 3.8)	33.2	1.19 m 1.69 m	33.2	1.19 m 1.69 m
8	42.1	–	42.1	–	41.8	–	41.9	–	41.9	–
9	50.0	1.28 m	49.9	1.27 m	49.9	1.32 m	50.0	1.29 m	50.0	1.29 m
10	36.4	–	36.4	–	36.2	–	36.2	–	36.2	–
11	18.5	1.49 m 1.64 dd (12.5, 4.4)	18.5	1.49 m 1.64 dd (12.7, 3.4)	18.5	1.49 m 1.64 m	18.6	1.47 m 1.69 m	18.6	1.47 m 1.69 m
12	32.1	1.31 m 2.06 m	32.1	1.31 m 2.06 m	31.9	1.29 m 2.07 m	32.3	1.32 m 2.01 m	32.3	1.32 m 2.01 m
13	86.9	–	86.9	–	87.0	–	87.6	–	87.6	–
14	44.5	–	44.5	–	44.0	–	42.7	–	42.7	–
15	35.5	1.28 m 2.09 m	35.5	1.27 m 2.08 m	35.6	1.23 d (15.7) 2.13 m	35.7	1.22 d (15.2) 2.01 m	35.7	1.22 d (15.2) 2.01 m
16	69.8	4.33 d (5.0)	69.8	4.32 br s	76.7	3.90 d (4.7)	75.8	3.83 d (5.2)	75.8	3.83 d (5.2)
17	49.1	–	49.1	–	43.9	–	47.9	–	47.9	–
18	50.7	1.47 dd (14.0, 2.5)	50.7	1.46 dd (12.5, 2.1)	51.0	1.52 dd (14.0, 4.7)	46.7	1.71 m	46.7	1.71 m
19	37.6	1.15 m 2.46 dd (14.1, 12.3)	37.6	1.15 m 2.45 dd (13.9, 12.5)	38.4	2.40 dd (14.0, 12.2) 1.21 d (12.6)	38.4	1.17 m 2.30 dd (14.5,12.0)	38.4	1.17 m 2.30 dd (14.5,12.0)
20	32.5	–	32.5	–	31.0	–	31.0	–	31.0	–
21	44.7	1.40 dd (12.3, 4.9) 2.20 t (12.3)	44.7	1.39 m 2.19 t (11.7)	36.0	1.15 m 2.10 m	36.0	1.15 m 2.06 t (13.3)	36.0	1.15 m 2.06 t (13.3)
22	74.2	3.74 dd (11.6, 4.9)	74.2	3.72 m	30.8	1.52 td (13.2, 4.4) 1.79 d (13.2)	25.1	1.98 m 1.42 dm (12.4)	25.1	1.98 m 1.42 dm (12.4)
23	27.0	1.08 s	27.0	1.07 s	62.9	3.21 d (11.2) 3.79 d (11.2)	63.2	3.30 d (11.5) 3.73 d (11.5)	63.2	3.30 d (11.5) 3.73 d (11.5)
24	15.3	0.87 s	15.3	0.86 s	11.9	0.68 s	11.7	0.73 s	11.7	0.73 s
25	15.3	0.92 s	15.3	0.92 s	15.8	0.93 s	15.8	0.96 s	15.8	0.96 s
26	17.4	1.17 s	17.4	1.17 s	17.4	1.17 s	17.5	1.20 s	17.5	1.20 s
27	18.7	1.28 s	18.7	1.28 s	18.5	1.27 s	18.4	1.25 s	18.4	1.25 s
28	76.7	3.67 m	76.7	3.67 s	77.3	3.14 d (7.6) 3.52 d (7.6)	105.5	4.19 s	105.5	4.19 s
29	32.3	1.00 s	32.3	1.00 s	32.5	0.97 s	32.5	0.94 s	32.5	0.94 s
30	24.6	0.98 s	24.6	0.96 s	23.5	0.93 s	23.5	0.90 s	23.5	0.90 s
OAc	–	–	–	–	171.5	–	53.9	–	53.9	–
CH ₃	–	–	–	–	19.6	2.08 s	–	3.33 s	–	3.33 s

^a in ppm, J in parentheses in Hz.

^b NMR spectra recorded at 500 or 600 MHz (^1H) and at 125 or 150 MHz (^{13}C).

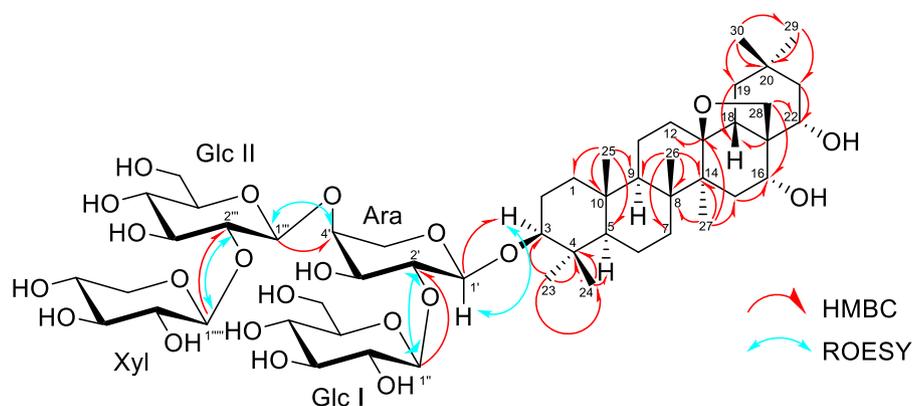


Fig. 2. Key HMBC and ROESY correlations for compound 1.

In addition, the HMBC correlation between the H-3 proton (δ_{H} 3.16) and an anomeric carbon at δ_{C} 104.2 (C-1') indicated that a glycosidic moiety was linked to C-3. After acid hydrolysis, the sugar units were identified as L-arabinose, D-glucose and D-xylose by co-TLC with authentic sugar followed by measurement of the optical rotation values of each purified monosaccharide. The 1D and 2D NMR spectra of compound 1 confirmed the presence of one α -L-arabinopyranosyl unit [δ_{H}

4.41 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-1'), δ_{C} 104.2, C-1'], two β -D-glucopyranosyl units [δ_{H} 4.71 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), δ_{C} 103.0, C-1''); δ_{H} 4.54 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'''), δ_{C} 103.4, C-1''') and one β -D-xylopyranosyl unit [δ_{H} 4.53 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''), δ_{C} 105.9, C-1'''). The coupling constant of H-1' ($^3J_{\text{H-1'}/\text{H-2'}} = 6.6$ Hz) and the axial correlations observed between H-1'/H-3' and H-1'/H-5' in the ROESY spectrum of 1, indicated the α -anomer configuration of the arabinose unit. The large coupling

Table 2

^{13}C NMR and ^1H NMR spectroscopic data of the sugar moieties for compounds 1–5 in CD_3OD ^{a, b}.

Position	1		2		3		4		5	
	δ_{C}	δ_{H}								
C3	Ara									
1'	104.2	4.41 d (6.6)	104.2	4.42 d (6.3)	103.4	4.43 d (6.8)	103.3	4.46 d (6.3)	103.3	4.46 d (5.8)
2'	78.0	3.82 m	78.0	3.82 m	79.9	3.73 dd (8.2, 6.8)	78.3	3.79 m	78.3	3.79 dd (8.7, 5.8)
3'	72.9	3.81 m	72.9	3.81 m	73.3	3.79 d (9.0)	73.1	3.80 m	73.0	3.80 dd (5.8, 3.3)
4'	78.8	3.90 m	78.8	3.90 m	78.7	3.92 m	78.8	3.91 m	78.7	3.91 m
5'	64.4	3.55 dd (12.5, 3.8)	64.3	3.55 dm (12.5)	64.5	3.53 d (12.5)	64.4	3.55 dm (12.6)	64.4	3.55 dd (12.7, 1.2)
		4.23 dd (12.5, 2.8)		4.22 d (12.5)		4.19 dd (11.9, 5.4)		4.22 dd (12.6, 2.9)		4.24 dd (12.7, 2.5)
	Glc I		Glc I		Glc I		Glc I		Glc I	
1''	103.0	4.71 d (7.7)	103.1	4.43 d (8.3)	103.7	4.71 d (7.6)	102.9	4.73 d (7.7)	102.9	4.73 d (7.8)
2''	74.6	3.21 dd (8.9, 7.7)	73.5	3.24 t (8.9)	74.6	3.25 t (7.6)	74.6	3.24 t (9.4, 7.7)	74.6	3.22 dd (9.1, 7.8)
3''	76.4	3.39 t (9.3)	76.6	3.30 m	76.4	3.41 t (9.0)	76.4	3.39 t (9.2)	76.4	3.40 t (9.1)
4''	70.6	3.19 t (9.2)	69.9	3.32 m	69.8	3.35 t (9.5)	70.4	3.20 t (9.3)	70.4	3.21 t (9.1)
5''	76.7	3.29 m	76.7	3.30 m	76.8	3.46 m	76.7	3.29 m	76.7	3.29 m
6''	61.9	3.62 dd (12.0, 6.7)	61.0	3.68 dd (10.4, 2.6)	63.5	4.20 dd (11.5, 2.5)	61.7	3.62 dd (12.1, 6.7)	61.7	3.62 dd (11.9, 6.6)
		3.86 dd (12.0, 2.0)		3.89 m		4.34 dd (11.5, 2.0)		3.87 dd (12.1, 2.1)		3.86 dd (11.9, 4.3)
	Glc II		Glc II		Glc II		Glc II		Glc II	
1'''	103.4	4.54 d (7.8)	103.3	4.57 d (8.8)	103.2	4.56 d (7.2)	103.2	4.58 d (7.8)	103.3	4.54 d (7.8)
2'''	83.7	3.41 dd (8.9, 7.8)	83.1	3.48 t (9.0)	83.6	3.44 dd (9.0, 7.2)	83.1	3.48 dd (9.0, 7.8)	83.7	3.40 t (8.5)
3'''	76.2	3.57 t (8.9)	74.7	3.75 t (9.0)	76.2	3.56 t (9.0)	74.6	3.75 t (9.1)	76.2	3.55 t (9.3)
4'''	69.7	3.35 m	78.5	3.63 t (8.9)	69.6	3.37 t (9.0)	78.5	3.63 t (9.2)	69.7	3.35 t (9.4)
5'''	76.7	3.34 m	75.1	4.30 m	76.5	3.28 m	75.1	3.44 dt (9.6, 3.6)	76.5	3.30 m
6'''	61.2	3.69 dd (12.4, 6.2)	60.3	3.89 m	61.1	3.68 dd (12.2, 5.4)	60.3	3.88 m	61.1	3.68 dd (11.9, 5.6)
		3.88 d (12.4)		3.88 m		3.87 d (12.2, 2.2)		3.88 m		3.87 dd (11.9, 4.1)
	Glc III		Glc III		Glc III		Glc III		Glc III	
1''''	102.9	4.71 d (7.3)	102.9	4.71 d (7.3)	103.1	4.43 d (7.9)	103.1	4.43 d (7.9)	103.1	4.43 d (7.8)
2''''	74.6	3.10 dd (8.9, 7.3)	74.6	3.10 dd (8.9, 7.3)	73.5	3.23 dd (9.0, 7.9)	73.5	3.23 dd (9.0, 7.9)	73.5	3.23 dd (9.2, 7.8)
3''''	76.4	3.39 m	76.4	3.39 m	76.4	3.37 t (9.0)	76.4	3.37 t (9.0)	76.4	3.37 t (9.2)
4''''	69.9	3.18 t (8.9)	70.6	3.18 t (8.9)	69.9	3.32 m	69.9	3.32 m	76.2	3.37 t (9.2)
5''''	76.7	3.30 m	76.7	3.30 m	76.7	3.35 m	76.7	3.35 m	69.6	3.53 m
6''''	61.9	3.60 dd (11.0, 4.7)	61.9	3.60 dd (11.0, 4.7)	61.0	3.68 dd (11.7, 5.2)	61.0	3.68 dd (11.7, 5.2)	66.0	3.31 m
		3.86 d (11.0)		3.86 d (11.0)		3.89 dd (11.7, 1.9)		3.89 dd (11.7, 1.9)		4.00 dd (11.4, 5.4)
	Xyl		Xyl		Xyl		Xyl		Xyl	
1'''''	105.9	4.53 d (7.6)	105.9	4.56 d (7.8)	105.9	4.55 d (6.8)	106.0	4.56 d (7.5)	105.9	4.53 d (7.8)
2'''''	74.5	3.27 dd (8.7, 7.6)	74.6	3.26 t (7.8)	74.5	3.27 dd (9.0, 6.8)	74.6	3.26 dd (8.2, 7.5)	74.5	3.27 dd (9.2, 7.8)
3'''''	76.5	3.39 m	76.1	3.37 m	76.3	3.36 t (9.0)	76.1	3.37 m	76.2	3.37 t (9.2)
4'''''	69.6	3.54 m	69.6	3.52 m	69.5	3.52 m	69.6	3.52 m	69.6	3.53 m
5'''''	66.0	3.32 m	66.0	3.32 m	66.0	3.30 m	66.0	3.32 m	66.0	3.31 m
		4.01 dd (11.3, 5.2)		4.01 dd (11.5, 5.7)		3.99 dd (11.5, 5.4)		4.00 dd (11.4, 5.2)		4.00 dd (11.4, 5.4)
OAc					171.5	–				
CH ₃					19.6	2.08 s				

^a in ppm, J in parentheses in Hz.

^b NMR spectra recorded at 500 or 600 MHz (^1H) and at 125 or 150 MHz (^{13}C).

constants from anomeric protons (>7 Hz) of the xylose and glucoses units, indicated their β -configurations (Liang et al., 2011). Extensive 2D-NMR analysis (COSY, TOCSY, ROESY, HSQC and HMBC) enabled the full assignments of all proton and carbon resonances of each monosaccharide (Table 2). HMBC correlation between H-1' and C-3 indicated that the arabinose unit was linked to C-3 of the aglycone. The glycoside sequence of compound **1** was determined by analysis of the HMBC and ROESY spectra. Thus, HMBC correlations were observed between H-1''/C-2' (δ_C 78.0), H-1'''/C-4' (δ_C 78.8) and H-1''/C-2''' (δ_C 83.7) (Fig. 2). In addition, ROESY correlations confirming the interglycosidic linkage and the point of attachment of the tetra-saccharide at the C-3 of the aglycone were observed between H-1'/H-3, H-1'/H-2', H-1''/H-4' and H-1'''/H-2''' (Fig. 2). According to the above results, the structure of compound **1** was elucidated as 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-priverogenin B, named monelloside A.

Compound 2, isolated as white amorphous powder, had a molecular formula of C₅₈H₉₆O₂₇ determined by the negative-ion HR-ESI-MS (1223.6061 [M-H]⁻, calcd 1223.6071), and differed from **1** by 162 amu corresponding to a supplementary hexosyl group. Comparison of the NMR data of **2** with those of **1** (Tables 1 and 2) showed that they shared the same aglycone but differed by the presence in **2** of an additional hexose unit identified as β -D-glucopyranose (GlcIII, $\delta_{H-1''''}$ 4.71). The HMBC correlation between H-1'''' and C-4''' (δ_C 78.5) indicated the linkage of GlcIII to GlcII on C-4''' (Shoji et al., 1994a). Therefore, the structure of compound **2** was established as 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-priverogenin B, named monelloside B.

Compound 3 was obtained as a white amorphous powder. Its molecular formula was determined as C₅₄H₈₈O₂₃ on the basis of its negative-ion HR-ESI-MS (1103.5629 [M-H]⁻, calcd 1103.5638) and it differed from **1** by 42 amu corresponding to an additional acetyl group. Extensive 1D and 2D-NMR analysis (Tables 1 and 2) showed that compound **3** differ from **2** by the absence of a hydroxyl group at C-22 and the presence of a hydroxyl group at C-23 of the aglycone, as in anagalligenin B (Mahato et al., 1991; Shoji et al., 1994b). Additional signals assigned to an acetyl group linked to C-6'' of GlcI, was evidenced by HMBC correlations between a carbonyl carbon signal at δ_C 171.5 with methyl protons at δ_H 2.08 and the same carbonyl carbon signal with H₂-6'' of GlcI ($\delta_{H-6''}$ 4.20 (1H, dd, $J = 11.5, 2.5$ Hz); indicating that **3** was an acetylated derivative of desglucoanagalosine B (**20**) (Shoji et al., 1994b). According to the above results, the structure of compound **3** was elucidated as 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[6-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranosyl-anagalligenin B, named monelloside C.

Compound 4 had a molecular formula of C₅₉H₉₈O₂₈, determined on the basis of its negative-ion HR-ESI-MS (1253.6169 [M-H]⁻, calcd 1253.6166). Extensive 1D and 2D NMR analysis showed that compounds **4** and **2** differed only by the aglycone part (Tables 1 and 2). Compound **4** revealed six signals corresponding to tertiary methyls at δ_H 1.25 (H₃-27), 1.20 (H₃-26), 0.96 (H₃-25), 0.94 (H₃-29), 0.90 (H₃-30) and 0.73 (H₃-24) and two oxygenated methine protons at δ_H 3.62 (H-3) and 3.83 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-16) correlating with six methyl carbons signals at δ_C 18.4, 17.5, 15.8, 32.5, 23.5, 11.7 and two oxygenated methine carbons signals at δ_C 82.5, 75.8, respectively in the HSQC spectrum. The disappearance of the hydroxyl group at C-22 led to the deshielding of C-16. In addition, two oxygenated methylene protons signal at δ_H 3.30 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-23a) and δ_H 3.73 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-23b) correlated with the carbon signal at δ_C 63.2 (C-23), in the HSQC spectrum. HMBC cross-peaks from δ_{H-24} 0.72 to δ_{C-23} 63.3 suggested the location of a hydroxyl function at C-23 (Bechkri et al., 2020). In addition, a quaternary carbon signal at δ_C 87.6 (C-13) and a singlet resonance at δ_H 4.19 (1H) corresponding to H-28 indicated the presence of 13, 28-epoxy-oleanane skeleton. The H-28 proton correlated in the HSQC spectrum with C-28 (δ_C 105.5) indicating the presence of another alkoxy

unit. The resulting acetal was confirmed by the HMBC correlation between the C-28 and the methyl of a methoxy group at δ_H 3.33 (s, CH₃). Assignments of other proton and carbon signals of the aglycone were accomplished by extensive 2D-NMR analyses which led to the elucidation of the aglycone part of **4** as 13,28-epoxy-(3 β ,16 α ,23)-trihydroxy-28-methoxy-oleanane, which differ from anagalligenin B (Mahato et al., 1991) by the presence of a methoxy group at C-28. Thus, compound **4** was identified as 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-13,28-epoxy-3 β ,16 α ,23-trihydroxy-28-methoxy-oleanane or 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-methoxy-anagalligenin B, named monelloside D.

Compound 5 was obtained as a white amorphous powder. Its molecular formula was determined as C₅₃H₈₈O₂₃ based on its negative-ion mode HR-ESI-MS (1091.5646 [M-H]⁻, calcd 1091.5638). Comparison of the NMR data of **5** with those of **4** (Tables 1 and 2) and analysis of the NMR spectra showed that compounds **4** and **5** had the same aglycone moiety (28-methoxy-anagalligenin B), while comparison of the ¹H and ¹³C NMR values of the oligosaccharide part of **5** with those of **1** indicated that **5** had the same tetrasaccharide moiety as in **1**, linked to C-3. Location of all proton and carbon signals was achieved by extensive 2D-NMR analyses, which elucidated compound **5** as 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-13,28-epoxy-3 β ,16 α ,23-trihydroxy-28-methoxy-oleanane, or 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-methoxy-anagalligenin B, named monelloside E.

Compound 6, isolated as a white amorphous powder, had a molecular formula of C₆₂H₁₀₄O₂₈, determined on the basis of its HR-ESI-MS negative-ion (1295.6633 [M-H]⁻, calcd 1295.6636). Comparison of the ¹H and ¹³C NMR data of **6** to those of **4** and analysis of the 2D NMR spectra of **6** showed that both possessed the same penta-saccharide chain (Tables 2 and 4), while slight differences were observed in the aglycone part, notably those due to the D and E rings (Tables 1 and 3). Compound **6** did not show the signals of a methoxy group bound to C-28 in its NMR spectra, but proton and carbon signals for an *n*-butyloxy group [δ_C 12.8, 19.1, 31.7 and 66.5; δ_H 0.95, 1.42, 1.56, 3.33 and 3.70]. The COSY spectrum supported the presence of the *n*-butyloxy group by correlations observed between CH₂-a (δ_H 3.33 and 3.70)/CH₂-b (δ_H 1.56), CH₂-b/CH₂-c (δ_H 1.42), and CH₂-c/CH₃-d (δ_H 0.95). The linkage of *n*-butyloxy group at the C-28 position of the aglycone was evidenced by the HMBC correlation between δ_H 4.28 (1H, brs, H-28)/ δ_C 66.5 (C-a) and δ_H 1.56 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, CH₂-b)/ δ_C 12.8 (C-d). These evidences led to the assignment of **6** as 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-13,28-epoxy-3 β ,16 α ,23-trihydroxy-28-*n*-butyloxy-oleanane, or 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-28-*n*-butyloxy-anagalligenin B, named monelloside F.

Compound 7 was obtained as an amorphous white powder. Its molecular formula was determined as C₅₆H₉₄O₂₃ on the basis of its negative-ion in HR-ESI-MS (1133.6107 [M-H]⁻, calcd 1133.6108), and corresponds to the loss of 162 amu compared to **6**. Comparison of the ¹H and ¹³C-NMR data of **7** with those of **6** and **5** showed that the NMR data of **7** exhibited many similarities with those of **6**, particularly for resonances assigned to *n*-butyloxy-anagalligenin B (Table 3), whereas the ¹H and ¹³C NMR signals due to the saccharide moieties showed that **7** and **5** shared the same tetra-saccharide chain (Tables 2 and 4). These data were confirmed by extensive 2D-NMR analyses and the assignments of all proton and carbon signals of **7**, leading to the elucidation of its structure as 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-13,28-epoxy-3 β ,16 α ,23-trihydroxy-28-*n*-butyloxy-oleanane, named monelloside G.

Compound 8, isolated as an amorphous white powder, had a

Table 3¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data of aglycone moieties for compounds 6–9 in CD₃OD^{a, b}.

Position	6		7		8		9	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	38.6	0.95 m 1.77 m	38.6	0.95 m 1.77 m	38.5	0.97 m 1.78 m	38.5	0.95 m 1.76 m
2	25.2	1.81 m 1.89 m	25.2	1.82 t (12.9) 1.90 m	25.2	1.81 m 1.90 m	25.1	1.77 m 1.90 m
3	82.5	3.62 m	82.5	3.63 m	82.3	3.63 d (8.9)	81.7	3.63 dd (12.0, 4.8)
4	42.9	–	42.9	–	42.9	–	42.7	–
5	46.8	1.17 m	46.8	1.18 m	46.6	1.18 dd (10.2, 2.9)	46.7	1.19 dd (9.5, 5.3)
6	16.9	1.42 m 1.46 m	16.9	1.42 m 1.43 m	16.7	1.47 m 1.49 m	16.7	1.47 m 1.49 m
7	33.2	1.18 m 1.68 m	33.2	1.19 m 1.68 m	32.7	1.11 dt (12.7, 3.2) 1.62 m	32.8	1.11 dt (12.7, 3.2) 1.60 m
8	41.9	–	41.9	–	42.5	–	42.5	–
9	50.0	1.28 m	49.9	1.28 m	49.8	1.26 m	49.8	1.26 m
10	36.2	–	36.2	–	36.1	–	36.1	–
11	18.6	1.47 m 1.68 m	18.6	1.47 m 1.68 m	18.3	1.57 m 1.74 m	18.3	1.57 m 1.74 m
12	32.4	1.31 m 2.02 m	32.4	1.31 t (13.6) 2.01 m	31.1	1.51 m 2.05 m	31.1	1.51 m 2.05 m
13	87.4	–	87.4	–	86.2	–	86.2	–
14	42.7	–	42.7	–	49.7	–	49.7	–
15	35.7	1.22 m 2.01 m	35.7	1.22 m 2.01 m	45.0	1.81 d (15.8) 2.80 d (15.8)	45.0	1.81 d (15.8) 2.80 d (15.8)
16	75.9	3.82 d (4.6)	75.9	3.82 m	214.3	–	214.3	–
17	48.0	–	48.4	–	55.8	–	55.8	–
18	46.7	1.76 m	46.7	1.77 m	54.5	2.02 dd (12.1, 2.7)	54.5	2.01 dd (13.8, 3.2)
19	38.5	1.17 m 2.28 t (12.8)	38.5	1.18 m 2.29 dd (14.2, 12.6)	39.6	1.36 t (13.8) 1.48 m	39.6	1.36 t (13.8) 1.48 m
20	31.1	–	31.0	–	31.1	–	31.1	–
21	36.1	1.16 m 2.04 m	36.1	1.17 m 2.05 m	35.0	1.23 m 1.57 m	35.0	1.23 m 1.57 m
22	25.2	1.41 m 2.04 m	25.2	1.41 m 2.05 m	24.2	1.25 m 2.11 d (11.7)	24.2	1.25 m 2.11 dt (12.7, 2.1)
23	63.2	3.30 m 3.72 m	63.2	3.30 m 3.73 d (11.6)	63.1	3.29 m 3.73 d (11.3)	63.1	3.31 m 3.65 d (11.1)
24	11.7	0.73 s	11.7	0.73 s	11.7	0.74 s	11.7	0.75 s
25	15.9	0.95 s	15.9	0.96 s	15.5	0.96 s	15.6	0.96 s
26	17.5	1.20 s	17.5	1.20 s	17.8	1.28 s	17.8	1.28 s
27	18.3	1.24 s	18.3	1.25 s	20.8	1.08 s	20.8	1.08 s
28	104.1	4.28 brs	104.1	4.28 brs	74.7	3.48 d (8.4) 3.93 d (8.4)	74.7	3.48 d (8.5) 3.93 d (8.5)
29	32.5	0.95 s	32.3	0.94 s	32.4	0.95 s	32.4	0.95 s
30	23.4	0.91 s	23.5	0.91 s	22.4	0.91 s	22.4	0.91 s
A	66.5	3.33 m 3.70 m	66.5	3.34 m 3.71 m				
b	31.7	1.56 t (6.5)	31.7	1.56 t (6.7)				
c	19.1	1.42 m	19.1	1.42 m				
d	12.8	0.95 t (6.9)	12.8	0.95 t (6.9)				

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.^b NMR spectra recorded at 600 and 150 MHz (¹H and ¹³C).

molecular formula of C₅₈H₉₄O₂₇ (negative-ion HR-ESI-MS (1221.5913 [M-H]⁻, calcd 1221.5904)). Comparison of the NMR data of **8** with those of **4** (Tables 2 and 4) and analysis of the NMR spectra showed that **8** had the same penta-saccharide moiety as **4**. Most of the aglycone NMR signals were directly attributed by comparison with the corresponding signals of **4** (Tables 1 and 3), but detailed analysis of the NMR spectra showed dissimilarities in the ring D and different chemical shifts for C-14, C-15, C-16, C-27, and C-28, due to the replacement of the hydroxyl at C-16 by a carbonyl group and the absence of signals due to the methoxy group at C-28 in **8** (Tables 1 and 3). The position of the carbonyl group was indicated by HMBC correlations of H-28 [δ_H 3.93 and 3.48; 1H each, *d*, *J* = 8.4 Hz] and H-15 [δ_H 2.80 and 1.81; 1H each, *d*, *J* = 15.8 Hz, H-15] with the ketocarbonyl at δ_C 214.3 (C-16) (Liang et al., 2006, 2011). The aglycone part was identified as anagalligenone B (Mahato et al., 1991). According to the above results, the structure of compound **8** was elucidated 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranosyl-anagalligenone B, named monelloside H.

Compound 9, isolated as an amorphous white powder, had a

molecular formula of C₅₂H₈₄O₂₂, determined on the basis of its HR-ESI-MS negative-ion (1059.5370 [M-H]⁻, calcd 1059.5376), indicating the loss of 162 amu compared to **8**. The complete assignments of each ¹H and ¹³C-NMR signals were achieved by analysis of the 2D-NMR experiments. The ¹H and ¹³C NMR data (Tables 3 and 4), were identical to those of compound **8**, except for signals due to the β -D-glucopyranosyl (GlcI) unit linked in C-2' position of the arabinosyl unit which disappeared in compound **9**. Accordingly, the structure of **9** was elucidated as 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-arabinopyranosyl-anagalligenone B, named monelloside I.

Compound 10 was obtained as an amorphous white powder. Its molecular formula was determined as C₅₈H₉₄O₂₇ on the basis of its HR-ESI-MS negative-ion (1221.5911 [M-H]⁻, calcd 1221.5904). The ¹H NMR and ¹³C NMR spectra of **10** (Tables 5 and 6) showed signals assignable to six angular methyl groups at δ_H 0.75/ δ_C -24 11.9, 1.00/ δ_C -25 15.1, 0.76/ δ_C -26 16.5, 1.41/ δ_C -27 25.9, 0.93/ δ_C -29 32.0 and 0.98/ δ_C -30 23.1, one olefinic proton at δ_H -12 5.42 (1H, t, *J* = 3.6 Hz; δ_C -12 123.0), two oxygenated methine protons at δ_H -3 3.63 (1H, m; δ_C -3 82.5), and δ_H -

Table 4

13C NMR and 1H NMR spectroscopic data of the sugar moieties for compounds 6–9 in CD₃OD^{a, b}.

Position	6		7		8		9	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
C3	Ara		Ara		Ara		Ara	
1'	103.3	4.46 d (6.3)	103.3	4.46 d (5.4)	103.3	4.46 d (6.1)	105.1	4.28 d (7.2)
2'	78.3	3.79 m	78.3	3.79 m	78.3	3.79 m	72.7	3.43 m
3'	73.1	3.80 m	73.1	3.80 m	73.1	3.80 m	73.2	3.47dd (9.2,4.0)
4'	78.8	3.91 m	78.7	3.90 m	78.7	3.91 m	80.0	3.85 dm (2.8)
5'	64.4	3.55 dd (11.9, 1.5) 4.22 d (11.9)	64.4	3.54 m 4.24 dd (12.7, 3.3)	64.4	3.55 m 4.22 dd (12.7, 2.8)	65.5	3.56 d (12.8) 4.20 dd (12.8, 2.0)
	Glc I		Glc I		Glc I			
1''	102.9	4.73 d (7.7)	102.9	4.73 d (7.6)	102.9	4.72 d (7.7)		
2''	74.6	3.21 dd (9.2, 7.7)	74.6	3.22 dd (8.8, 7.6)	74.6	3.21 dd (8.9, 7.7)		
3''	76.4	3.39 m	76.4	3.39 t (9.2)	76.4	3.39 t (9.4)		
4''	70.4	3.20 m	70.4	3.21 t (9.1)	70.4	3.20 t (9.4)		
5''	76.7	3.29 m	76.7	3.30 m	76.7	3.29 m		
6''	61.7	3.62 dd (11.9, 4.5) 3.86 dd (11.9, 2.3)	61.7	3.63 m 3.86 dd (11.9, 4.8)	61.7	3.61 dd (11.9, 6.6) 3.86 dd (11.9, 2.0)		
	Glc II		Glc II		Glc II		Glc II	
1'''	103.2	4.58 d (7.7)	103.3	4.54 d (7.8)	103.2	4.58 d (7.7)	103.7	4.56 d (8.0)
2'''	83.1	3.48 dd (8.9, 7.7)	83.8	3.40 t (8.7)	83.1	3.49 dd (8.9, 7.7)	84.1	3.50 dd (9.0, 8.0)
3'''	74.6	3.74 m	76.1	3.56 m	74.6	3.74 t (9.1)	74.5	3.74 t (9.0)
4'''	78.5	3.62 t (9.2)	69.7	3.35 m	78.5	3.63 t (9.4)	78.3	3.66 t (9.2)
5'''	75.1	3.44 m	76.5	3.34 m	75.1	3.44 m	75.0	4.43 m
6'''	60.3	3.87 m 3.89 m	60.1	3.69 dd (11.9, 5.7) 3.87 d (11.9, 4.8)	60.3	3.87 m 3.89 m	60.3	3.87 m 3.89 m
	Glc III		Glc III		Glc III		Glc III	
1''''	103.1	4.43 d (8.6)			103.1	4.43 d (7.9)	103.1	4.44 d (7.6)
2''''	73.5	3.24 m			73.5	3.24 dd (8.8, 7.9)	73.5	3.24 dd (8.8, 7.6)
3''''	76.4	3.38 t (8.9)			76.1	3.37 m	76.4	3.37 t (9.0)
4''''	69.9	3.33 m			69.9	3.33 m	69.9	3.32 m
5''''	76.6	3.34 m			76.7	3.43 m	76.6	3.30 m
6''''	61.0	3.67 dd (11.6, 3.4) 3.88 m			60.9	3.68 dd (11.9, 5.6) 3.89 m	61.0	3.68 dd (12.0, 5.6) 3.89 dd (12.0, 2.0)
	Xyl		Xyl		Xyl		Xyl	
1'''''	106.0	4.56 d (7.9)	105.9	4.52 d (7.6)	105.9	4.56 d (7.6)	106.6	4.52 d (7.6)
2'''''	74.6	3.26 dd (8.9, 7.9)	74.5	3.27 t (7.9)	74.6	3.25 t (8.1)	74.8	3.25 dd (9.6, 7.6)
3'''''	76.1	3.37 m	76.2	3.35 m	76.4	3.37 m	76.2	3.37 t (9.6)
4'''''	69.6	3.53 m	69.5	3.52 m	69.5	3.52 m	69.4	3.52 m
5'''''	66.0	3.32 t (11.0) 4.00 dd (11.0, 5.5)	66.0	3.31 m 4.00 dd (11.3, 5.4)	66.0	3.32 m 4.00 dd (11.4, 5.4)	65.7	3.28 t (11.6) 4.00 dd (11.6, 5.6)

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.^b NMR spectra recorded at 600 MHz and 150 (¹H and.

16 4.29 (1H, t, *J* = 3.6 Hz; δ_{C-16} 72.5) and one oxygenated methylene (δ_{H-23} 3.30 and 3.73; δ_{C-23} 63.3), corresponding to a 3 β ,16 α ,23-trihydroxyolean-12-en skeleton (Bechkri et al., 2020). Moreover, an HSQC correlation between a proton singlet at δ_H 9.23 (1H, s, H₁₋₂₈) and its carbon at δ_C 205.6 (C-28) indicated the presence of an aldehyde group. This was confirmed by the HMBC correlations observed between H-18, H-16 with C-28 (Fig. 3) (Lakhal et al., 2014; Zhang et al., 2002). The aglycone of compound 10 was identified as 3 β ,16 α ,23-trihydroxyolean-12-en-28-al. Detailed analysis of the 2D-NMR spectra of 10 and comparison of its NMR data with those of 2 (Tables 2 and 6) identified the same penta-saccharide as in 2. The HMBC correlations observed between the signal at δ_H 3.63 (H-3) and the anomeric carbon of L-arabinose at $\delta_{C-1'}$ 103.3 1 in the HMBC spectrum (Fig. 3) confirmed that the glycosidic moiety was linked to C-3 of the aglycone (Zhang et al., 2002). According to the above results, the structure of compound 10 was elucidated as 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] α -L-arabinopyranosyl-3 β ,16 α ,23-trihydroxyolean-12-en-28-al, named monelloside J.

Compound 11 was obtained almost as an amorphous white powder. Its molecular formula was determined as C₅₂H₈₄O₂₂ on the basis of its HR-ESI-MS negative-ion (1059.5367 [M-H]⁻, calcd 1059.5376). Comparison of the NMR data of 11 with those of 10 (Tables 5 and 6) showed that it had the same aglycone as 10 but differed in its saccharide units. The NMR spectroscopic data of the saccharide part of 11 were identical to those of 1 (Tables 2 and 6). Extensive 2D-NMR analysis enabled the full assignments of the same tetra-saccharide as in 1. The correlation

between H-3 of aglycone (δ_H 3.64, 1H, dd, *J* = 11.7, 4.3 Hz) and the anomeric carbon of the arabinose unit ($\delta_{C-1'}$ 103.3) on the HMBC spectrum confirmed that the glycosidic moiety was linked to C-3. According to the above evidences, the structure of 11 was elucidated as 3-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] α -L-arabinopyranosyl-3 β ,16 α ,23-trihydroxyolean-12-en-28-al, named monelloside K.

Compound 12 was obtained as an amorphous white powder. Its molecular formula was determined as C₅₃H₈₆O₂₃ on the basis of its HR-ESI-MS negative-ion (1089.5490 [M-H]⁻, calcd 1089.5482). Comparison of the ¹H and ¹³C-NMR data of 12 with those of 10 (Tables 5 and 6) showed that it had the same aglycone but differed in its saccharide units. The NMR spectroscopic data of 12 were almost identical to those of 10, except for the absence of the signals of β -D-xylopyranosyl. Detailed analysis of the 2D-NMR spectra of 12 led to the identification of its structure as 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-] α -L-arabinopyranosyl-3 β ,16 α ,23-trihydroxyolean-12-en-28-al, named monelloside L.

Compound 13 was obtained as an amorphous white powder. Its molecular formula was determined as C₄₇H₇₆O₁₈ on the basis of its HR-ESI-MS negative-ion (927.4966 [M-H]⁻, calcd 927.4953). Comparison of ¹H and ¹³C-NMR spectra of 13 (Tables 5 and 6) and 10 indicated a similarity of these two compounds, with the exception of the disappearance of the glucose (GlcIII) and xylose units in the glycosidic part of 13. Extensive analysis of the 1D and 2D-NMR spectra of 13 established that the glycosidic sequence was 3-O-glc-(1 \rightarrow 4)-[glc-(1 \rightarrow 2)]-ara.

Table 5¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data of the aglycone moieties for compounds 10–13 in CD₃OD^{a, b}.

Position	10		11		12		13	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
1	38.2	1.00 m 1.65 m	38.2	1.00 m 1.66 m	38.2	1.00 m 1.66 dt (13.3, 3.6)	38.2	1.00 m 1.65 m
2	25.0	1.80 t (14.3) 1.89 m	25.0	1.80 t (12.9) 1.89 m	24.9	1.79 m 1.89 m	24.9	1.80 t (12.6) 1.89 m
3	82.5	3.63 m	82.4	3.64 dd (11.7, 4.3)	82.4	3.63 m	82.4	3.64 m
4	42.8	–	42.7	–	42.7	–	42.7	–
5	46.9	1.24 d (11.7)	46.8	1.24 d (11.7)	46.8	1.24 d (11.7)	46.8	1.24 d (10.9)
6	17.4	1.37 m 1.52 m	17.4	1.38 m 1.52 m	17.3	1.37 m 1.51 m	17.4	1.37 m 1.52 m
7	32.3	1.31 m 1.69 m	32.2	1.31 m 1.70 m	32.2	1.31 m 1.69 m	32.2	1.31 m 1.70 m
8	39.4	–	39.4	–	39.4	–	39.4	–
9	46.7	1.69 t (8.5)	46.6	1.69 m	46.7	1.68 t (8.8)	46.7	1.69 m
10	36.2	–	36.2	–	36.2	–	36.2	–
11	23.1	1.93 m 1.94 m	23.1	1.93 m 1.94 m	23.1	1.92 m 1.94 m	23.1	1.92 m 1.93 m
12	123.0	5.42 t (3.6)	123.0	5.42 brs	123.0	5.42 t (3.5)	123.0	5.42 t (3.7)
13	142.9	–	142.9	–	142.9	–	142.9	–
14	41.4	–	41.4	–	41.4	–	41.4	–
15	34.6	1.40 m 1.82 dd (14.7, 4.0)	34.5	1.40 m 1.82 d (12.9)	34.5	1.40 dd (14.2, 2.7) 1.82 dd (14.2, 3.6)	34.5	1.40 m 1.82 dd (14.5, 3.7)
16	72.5	4.29 t (3.6)	72.4	4.29 brs	72.4	4.29 t (3.5)	72.4	4.28 t (3.7)
17	50.8	–	50.8	–	50.9	–	50.8	–
18	40.4	2.68 dd (14.5, 3.9)	40.4	2.68 dd (13.8, 3.3)	40.4	2.68 dd (14.2, 4.4)	40.4	2.68 dd (13.5, 4.3)
19	46.1	1.14 dd (13.3, 4.9) 2.27 t (13.3)	46.0	1.13 d (13.8) 2.27 t (13.8)	46.0	1.14 dd (12.7, 3.6) 2.27 t (14.2)	46.0	1.13 dd (13.5, 4.3) 2.27 t (13.5)
20	29.9	–	29.9	–	29.9	–	29.9	–
21	34.2	1.20 m 1.94 m	34.2	1.21 m 1.94 m	34.2	1.20 m 1.93 m	34.2	1.21 m 1.94 m
22	25.9	1.56 m	25.9	1.55 m	25.9	1.54 m	25.9	1.54 m
23	63.3	3.30 m 3.73 d (11.6)	63.2	3.30 m 3.73 d (11.4)	63.2	3.30 m 3.70 d (11.4)	63.3	3.31 m 3.68 d (11.6)
24	11.9	0.75 s	11.9	0.74 s	11.9	0.73 s	11.9	0.73 s
25	15.1	1.00 s	15.1	1.00 s	15.1	1.00 s	15.1	1.01 s
26	16.5	0.76 s	16.5	0.75 s	16.5	0.76 s	16.5	0.75 s
27	25.9	1.41 s	25.9	1.41 s	25.9	1.41 s	25.9	1.41 s
28	205.6	9.23 s	205.6	9.23 s	205.6	9.23 s	205.6	9.23 s
29	32.0	0.93 s	32.0	0.92 s	32.0	0.92 s	32.0	0.92 s
30	23.1	0.98 s	23.1	0.98 s	23.1	0.98 s	23.1	0.98 s

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.^b NMR spectra recorded at 600 and 150 MHz (1H and ¹³C).

Thus, the structure of compound **13** was elucidated as 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-[β-D-glucopyranosyl-(1 → 2)]α-L-arabinopyranosyl-3β,16α,23-trihydroxyolean-12-en-28-ol, named monelloside M.

The known compounds were identified as repandoside (**14**), lysiokoianoside (**15**) (Dall'Acqua et al., 2010), capilliposide A (**16**) (Tian et al., 2006), anagallosaponin I (**17**), anagalloside C (**18**), anagalloside B (**19**), desgluconagalloside B (**20**), (Shoji et al., 1994a), anagallosaponin IX (**21**) (Hifnawy et al., 2020), anagallisin D (**22**) (Mahato et al., 1991), heterogenoside D (**23**) (Huang et al., 2009) (Fig. S103 in supporting material). Their spectroscopic data were in perfect agreement with those reported in the literature.

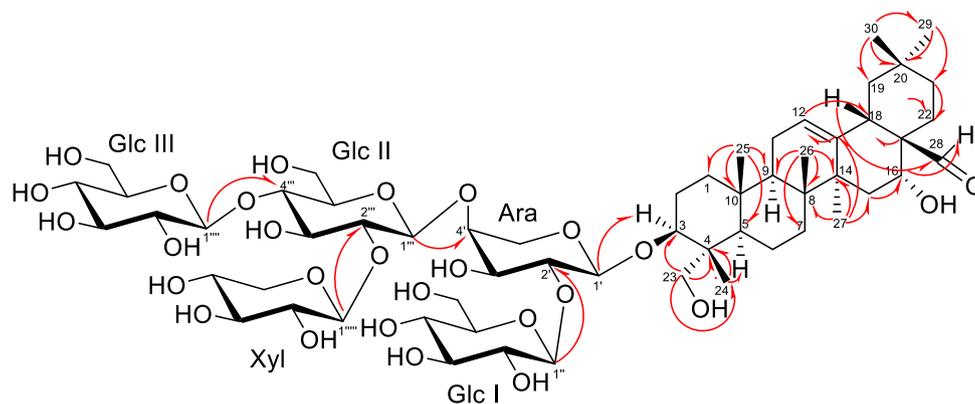
2.2. Chemophenetic significance

Phytochemical studies of the genus *Anagallis* revealed its richness of triterpenoids saponins with an oleanane skeleton. Until now, 38 compounds were isolated from only one species *Anagallis arvensis* (Aliotta et al., 1992; Amoros and Girre, 1987; De Napoli et al., 1992; Glombitza and Kurth, 1987a; Kitagawa et al., 1976; Mahato et al., 1991; Shoji et al., 1994a, 1994b). The present study, which was carried out on the Algerian subspecies *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L). Maire, allowed the isolation and identification of 13 undescribed monodesmoside saponins (Fig. 1), as well as 10 known monodesmoside saponins (Fig. S103 in supporting material). The aglycones of these triterpenoid glycosides

were found to be priverogenin B (**1–2**), anagalligenin B (**3**, **19**, **20**), 28-alkoxy-anagalligenin B (**4–7**), anagalligenone B (**8**, **9**, **22**), 16, 23-dihydroxy-oleanolaldehyde (**10–13**), protoprimumagenin A (**14–15**), 28-hydroxy-protoprimumagenin A (**16–17**), 22-acetyl-priverogenin B (**18**), 22-acetoxy-anagalligenin B (**21**), and longispinogenin (**23**). All the 23 saponins isolated from *A. monelli* ssp. *linifolia* in the present study shared a carbohydrate chain linked to C-3 of the aglycone with a common sequence glc-(1 → 4)-ara- which was further glycosylated by glc and/or ara. In 22 of the 23 isolated saponins, arabinose unit was substituted at its C-2' by another glucose unit (glcII) to give the motif **S6**: glc-(1 → 4)-[glc-(1 → 2)]-ara-. In all the bridged oleanane skeleton, except for compound **9** (Fig. 1, S1, S2 and S3), a xylose unit was linked to C-2 of glcI making the sequence **S2**: xyl-(1 → 2)-glc-(1 → 4)-[glc-(1 → 2)]-ara-, and this sequence was also found in three (**10**, **11**, **23**) of the five compounds exhibiting ring-opening of the 13,28-epoxy-oleanane skeleton (Fig. 1, F.S103). About half of the compounds isolated from *A. monelli* ssp. *linifolia* were substituted at C-4 of glcII by a third glucose unit (Fig. 1) to give the sequence **S1**: glc-(1 → 4)-[xyl-(1 → 2)]-glc-(1 → 4)-[glc-(1 → 2)]-ara- which has been encountered in saponins isolated from *A. arvensis* (Glombitza and Kurth 1987b). Similarly, the sequences **S4**: glc-(1 → 4)-[xyl-(1 → 2)]-glc-(1 → 4)-ara-, **S5**: glc-(1 → 4)-glc-(1 → 4)-[glc-(1 → 2)]-ara- and **S6**: glc-(1 → 4)-[glc-(1 → 2)]-ara- at C-3 of compounds **9**, **12** and **13**, respectively, were previously encountered in saponins isolated from *A. arvensis* (Shoji et al., 1994a; Mahato et al., 1991). In addition, all aglycone parts of *A. monelli* ssp. *linifolia*

Table 6¹³C NMR and ¹H NMR spectroscopic data of the sugar moieties for compounds 10–13 in CD₃OD^{a, b}.

Position	10		11		12		13	
	δ _C	δ _H						
C3	Ara		Ara		Ara		Ara	
1'	103.3	4.46 d (6.4)	103.3	4.46 d (5.1)	102.9	4.56 d (6.2)	102.9	4.55 d (5.3)
2'	78.3	3.79 m	78.2	3.79 m	77.5	3.89 t (7.7)	77.6	3.89 m
3'	73.1	3.80 m	73.1	3.80 m	72.2	3.87 dd (8.2, 2.3)	72.3	3.87 m
4'	78.8	3.91 m	78.8	3.90 m	77.3	3.98 dd (6.6, 2.7)	77.2	3.99 m
5'	64.4	3.55 d (12.6)	64.5	3.55 m	63.4	3.57 dd (12.4, 1.9)	63.5	3.57 dd (12.4, 1.9)
		4.21 dd (12.6, 2.6)		4.24 dd (12.8, 3.3)		4.15 dd (12.4, 4.3)		4.15 dd (12.4, 4.2)
	Glc I		Glc I		Glc I		Glc I	
1''	103.0	4.73 d (7.7)	102.9	4.73 d (7.6)	103.1	4.66 d (7.8)	103.0	4.65 d (7.7)
2''	74.6	3.21 dd (9.2, 7.7)	74.5	3.21 dd (8.9, 7.6)	74.4	3.22 dd (8.9, 7.8)	74.4	3.22 dd (9.1, 7.7)
3''	76.5	3.40 t (9.2)	76.4	3.39 t (8.9)	76.6	3.37 t (8.9)	76.6	3.37 t (9.0)
4''	70.4	3.20 t (9.2)	70.4	3.19 t (9.5)	70.4	3.22 t (9.1)	70.4	3.22 t (9.5)
5''	76.7	3.29 m	76.7	3.29 m	76.8	3.28 m	76.9	3.29 m
6''	61.8	3.62 dd (12.0, 6.6)	61.8	3.60 dd (12.0, 4.9)	61.6	3.63 dd (12.0, 6.7)	61.6	3.63 dd (11.8, 6.6)
		3.87 dd (12.0, 1.6)		3.87 dd (12.0, 4.6)		3.87 dd (12.0, 2.3)		3.87 dd (11.8, 2.4)
	Glc II		Glc II		Glc II		Glc II	
1'''	103.2	4.59 d (7.7)	103.4	4.54 d (7.8)	104.1	4.53 d (7.8)	104.3	4.53 d (7.7)
2'''	83.1	3.42 dd (9.2, 7.7)	83.8	3.40 m	73.8	3.33 m	74.0	3.27 dd (8.9, 7.7)
3'''	74.6	3.75 t (9.2)	76.2	3.56 t (9.2)	74.8	3.51 t (8.9)	76.5	3.35 m
4'''	78.5	3.64 t (9.5)	69.6	3.34 m	79.0	3.59 t (8.9)	70.1	3.29 m
5'''	75.1	3.43 m	76.5	3.29 m	75.1	3.42 m	76.7	3.29 m
6'''	60.3	3.87 d (12.4)	61.1	3.68 dd (11.7, 5.2)	60.4	3.87 dm (12.5)	61.3	3.67 d (11.8, 5.5)
		3.89 m		3.88 m		3.91 d (12.5, 2.6)		3.88 d (11.8, 2.4)
	Glc III				Glc III			
1''''	103.1	4.43 d (7.9)			103.2	4.42 d (7.8)		
2''''	73.5	3.24 t (8.2)			73.5	3.23 dd (8.6, 7.7)		
3''''	76.5	3.39 t (8.9)			76.4	3.38 t (8.6)		
4''''	69.9	3.33 m			69.9	3.32 m		
5''''	76.7	3.36 m			76.6	3.35 m		
6''''	61.0	3.68 dd (11.8, 5.5)			61.0	3.68 dd (11.8, 5.5)		
		3.89 m				3.89 dd (11.8, 2.3)		
	Xyl		Xyl					
1'''''	106.0	4.56 d (7.9)	105.9	4.52 d (8.2)				
2'''''	74.6	3.27 dd (9.2, 7.7)	74.5	3.26 dd (9.5, 8.2)				
3'''''	76.1	3.37 t (9.2)	76.2	3.37 t (9.5)				
4'''''	69.6	3.53 m	69.5	3.52 m				
5'''''	66.0	3.32 m	66.0	3.32 m				
		4.01 dd (11.3, 5.3)		4.00 dd (11.4, 4.9)				

^a in ppm, *J* in parentheses in Hz.^b NMR spectra recorded at 600 and 150 MHz (1H and.**Fig. 3.** Key HMBC correlations for compound 10.

with 13 β ,28-epoxy bridge were previously identified in saponins isolated from *A. arvensis* (Shoji et al., 1994b), except for compounds 4–7, which showed novel features including the C-28 alkoxy group. The known anagallosaponin I (17), anagalloside C (18), anagalloside B (19), desgluconagalloside B (20), anagallosaponin IX (21) anagallisin D (22) were previously isolated from *A. arvensis* (Shoji et al., 1994a; Mahato et al., 1991). It worth to note that the aglycones of compounds 10–13 were formerly identified in saponins from *Lysimachia candida* (Zhang

et al., 2002), while repandoside (14), lysikoianoside (15), capilliposide A (16) and heterogenoside D (23) were previously isolated from *Cyclamen repandum* (Dall'Acqua et al., 2010), *Lysimachia sikokiana* (Dall'Acqua et al., 2010; Kohda et al., 1989) (14, 15), *Lysimachia capillipes* (16) (Tian et al., 2006) and *Lysimachia heterogenea* (23) (Huang et al., 2009).

This genus *Anagallis* has traditionally been assigned to the family Primulaceae (Quezel and Santa, 1963). However, data from

phylogenetic analyses suggest that *Anagallis*, along with eight other genera, *Lysimachia*, *Trientalis*, *Glaux*, *Asterolinon*, *Pelletiera*, *Coris*, *Ardiansandra*, and *Cyclamen*, be re-located to the family Myrsinaceae (Källersjö et al., 2000; Hao et al., 2004). Moreover, Manns and Anderberg (2009 and 2011) have suggested to re-located *Anagallis* species in *Lysimachia* genus. In order to discuss the reclassification of *Anagallis* species in the *Lysimachia* genus, both transferred from the Primulaceae to the Myrsinaceae, we analysed some saponin characteristics of species from the Myrsinaceae and Primulaceae families which showed that these species were characterized by a pentacyclic triterpenoid saponin with 16- α -hydroxy and 13 β ,28-epoxy bridge skeleton (Foubert et al., 2008). Actually, the Primulaceae family is divided into four subfamilies: Maesoideae, Theophrastoideae, Primuloideae and Myrsinoideae. *Anagallis* was in the Myrsinoideae subfamily, which is consistent of 41 genera and 1435 species including the genus *Ardisia*, *Cyclamen*, *Lysimachia*, and *Myrsine* (Stevens, 2001). So the species previously included in Myrsinaceae family are in the subfamily Myrsinoideae in the Primulaceae family.

In the present species, we have identified a four-unit branched sugar chain linked at C-3 of the aglycone **S2** { xyl-(1 \rightarrow 2)-glc-(1 \rightarrow 4)-[glc-(1 \rightarrow 2)-]ara-} (Fig. 4). This chain was found in saponins of *Anagallis* (Glombitza and Kurth, 1987b; Shoji et al., 1994a and b), *Lysimachia* (Kohda et al., 1989; Podolak et al., 2013), *Cyclamen* (Altunkeyik et al., 2012; Bencharif-Betina et al., 2012; Dall'Acqua et al., 2010; El Hosry et al., 2014), *Ardisia* (Jia et al., 1994), *Myrsine* (Bloor and Qi, 1994), and *Androsace* genera (Waltho et al., 1986) (Table 7). This tetrasaccharide sequence **S2** can be substituted with glucose at C-4 of glcII or glcI in the case of *Anagallis* saponins (Shoji et al., 1994a and b; Soberón et al., 2017), at C-3 or C-6 of glcII in the case of *Cyclamen* saponins (Çalis et al., 1997a, 1997b), or at C-4 of the terminal glucose (glcI) in the case of *Androsace saxifragaefolia* saponins (Waltho et al., 1986); however, it was the only study found for the genus *Androsace*. In addition, this common chain was substituted with xylose at C-4 of glcII in the case of *Lysimachia* saponins (Podolak et al., 2013), or with rhamnose at C-3 of glcII in saponins of *Ardisia gigantifolia* (Mu et al., 2010). Many saponins contain rhamnose in the sequence of the sugar moiety in the genera *Ardisia* and *Myrsine* (Foubert et al., 2008). For *Primula denticulata*, it was the only species that had similarity in saponin content with the genus *Anagallis*, the other species had completely different osidic chains (Foubert et al., 2008). We can conclude that the genera *Anagallis*, *Lysimachia*, and *Cyclamen* are very similar with respect to chemotaxonomic markers and thus can confirm their place in the Myrsinoideae subfamily.

Triterpene saponins identified so far from the genus *Lysimachia*, generally have oleanane-derived sapogenols of two structural types: I. 13 β ,28-epoxy and II. Δ^{12} -17-CH₂OH. Compounds of type I are considered very rare and are found almost exclusively in the Myrsinaceae and Primulaceae families (Foubert et al., 2008; Podolak et al., 2013). In the present study, eighteen type I and one type II triterpene saponins were obtained from *Anagallis monelli* ssp. *linifolia*. It is interesting to observe that the known compounds **14–23** were reported previously in various

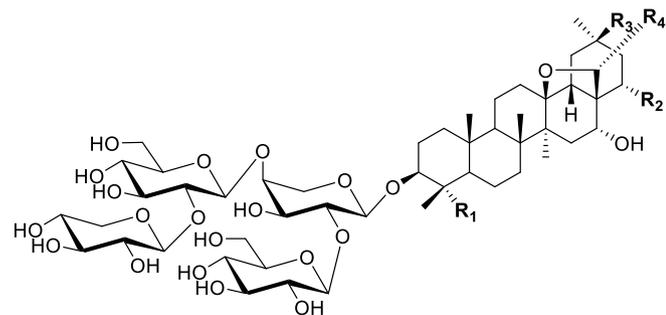


Fig. 4. The common carbohydrate chain linked on the C-3 of 13,28-epoxy-3,16-oleananediol.

Table 7

3-O- β -xyl-(1 \rightarrow 2)-glc-(1 \rightarrow 4)-[glc-(1 \rightarrow 2)-]-arabinopyranosyl-13,28-epoxy-3,16-oleananediol derivatives skeleton of species in the Myrsinaceae and Primulaceae.

R1	R2	R3	R4	Name of plant	Reference
Me	H	Me	H	<i>Cyclamen repandum</i>	Dall'Acqua et al., 2010 Kohda et al., 1989
				<i>Lysimachia sikokiana</i>	
				<i>Lysimachia vulgaris</i>	Podolak et al., 1998
				<i>Lysimachia clethroides</i>	Podolak et al., 2013
				<i>Myrsine australis</i>	Bloor and Qi, 1994
CH ₂ OH	H	Me	H	<i>Anagallis arvensis</i>	Glombitza and Kurth, 1987b
				<i>Cyclamen africanum</i>	Bencharif-Betina et al., 2012
				<i>Cyclamen repandum</i>	Dall'Acqua et al., 2010
				<i>Lysimachia ciliata</i>	Podolak et al., 2013
				<i>Lysimachia ephemerum</i>	Podolak et al., 2013
				<i>Lysimachia heterogena</i>	Huang et al., 2011
Me	H	CH ₂ OH	H	<i>Ardisia crenata</i>	Jia et al., 1994
				<i>Lysimachia thyriflora</i>	Podolak et al., 2013
Me	H	CHO	H	<i>Androsace saxifragaefolia</i>	Waltho et al., 1986
				<i>Ardisia crispa</i>	Jansakul et al., 1987
				<i>Cyclamen africanum</i>	Bencharif-Betina et al., 2012
				<i>Cyclamen libanoticum</i>	El Hosry et al., 2014
				<i>Cyclamen persicum</i>	El Hosry et al., 2014
				<i>Cyclamen repandum</i>	Dall'Acqua et al., 2010
				<i>Cyclamen</i> spp.	Reznicek et al., 1989
				<i>Cyclamen trocopteranthum</i>	Mihci-Gaidi et al., 2010
				<i>Lysimachia nummularia</i>	Podolak et al., 2013
				<i>Lysimachia punctata</i>	Podolak et al., 2013
				<i>Myrsine australis</i>	Bloor and Qi, 1994
				<i>Myrsine pellucida</i>	Lavaud et al., 1994
				<i>Myrsine salicina</i>	Bloor and Qi, 1994
				<i>Primula denticulata</i>	Ahmad et al., 1988
CH ₂ OH	H	CHO	H	<i>Cyclamen coum</i> var. <i>coum</i>	Çalis et al., 1997b
				<i>Cyclamen mirabilis</i>	Çalis et al., 1997a
Me	H	COOH	H	<i>Cyclamen hederifolium</i>	Altunkeyik et al., 2012
Me	H	Me	OH	<i>Myrsine australis</i>	Bloor and Qi, 1994
Me	OH	Me	H	<i>Anagallis arvensis</i>	Shoji et al., 1994b
Me	OAc	Me	H	<i>Anagallis arvensis</i>	Shoji et al., 1994a
				<i>Lysimachia ciliata</i>	Podolak et al., 2013
				<i>Lysimachia ephemerum</i>	Podolak et al., 2013
Me	OH	Me	OH	<i>Lysimachia capillipes</i>	Tian et al., 2006

species belonging exclusively to genera traditionally assigned to the family Myrsinaceae or genera which were re-located to this family from the Primulaceae, i.e., *Anagallis*, *Lysimachia* and *Cyclamen*. Four of the ten known compounds isolated from *A. monelli* ssp. *linifolia* (**14–16**, and **23**), having the sequence **S2** at C-3 of the aglycone were previously isolated from *Lysimachia* species. They may therefore be considered as chemotaxonomic markers for this family, and provide chemical support for phylogenetic analyses, which suggest the transfer of the genus *Lysimachia* to the family Myrsinaceae. It worth to note that *Lysimachia* saponins possess a second tetrasaccharide C-3 linked chain, in which a rhamnose can replace the xylose at C-2 of glcII (Dai et al., 2017; Podolak et al., 2013). The present study reinforces previous reports which indicated that sapogenols with 13 β ,28-epoxy-bridge are the predominant triterpenoid skeleton in species of the Myrsinaceae, including the genus

Anagallis and can be considered as a chemotaxonomic marker for this plant family (Foubert et al., 2008). A branched four-unit sugar chain **S2**, with arabinose substituted at C-2 with glucose and at C-4 with glucose and terminal xylose, seems to be typical for these Primulaceae saponins.

In conclusion, in our phytochemical research on *A. monelli* ssp. *inifolia*, the chemotaxonomic significance associated with *Anagallis* was discussed. Our results confirmed the richness of *Anagallis* species in oleanan-type glycosides and showed that the sequence **S1** (glc-(1 → 4)-[xyl-(1 → 2)]-glc-(1 → 4)-[glc-(1 → 2)]-ara-) can be suggested as a chemotaxonomic marker for the genus *Anagallis*, but that proposal needs to be confirmed since only the species *Anagallis arvensis* had been studied before this work. Finally, our phytochemical results increase the knowledge on saponins of the genus *Anagallis* and its family Primulaceae and stimulate to evaluate the biological activities of these saponins.

3. Experimental

3.1. General experimental procedures

The values of the optical rotations were measured by an Anton Paar MCP 5100 polarimeter (Graz, Austria). 1D and 2D-NMR spectra (¹H and ¹³C-NMR, ¹H-¹H COSY, ROESY, HSQC and HMBC) were recorded on a Bruker Avance III-600 spectrometer (Karlsruhe, Germany) equipped with a 5 mm TCI cryoprobe. 2D-NMR experiments were performed using a standard Bruker microprograms (TopSpin 4.0.6 software). HR-ESI-MS experiments were performed on a Waters SYNAPT G2-Si High Resolution Q-TOF Mass Spectrometer equipped with electrospray ionization (ESI) source (Waters Corp., Manchester, UK). Flash chromatography was performed on a GRACE Reveleris X1 system (Flawil, Switzerland) equipped with a Reveleris Navigator and dual UV and ELSD detection using Grace® cartridges (silica gel or RP-C₁₈). Preparative high-performance liquid chromatography (HPLC) was performed on a Gilson PLC 2050 (Saint-Avé, France) equipped with Gilson Glider software, Armen pump and Ecom UV detector, using a RP-C₁₈ column (Interchim uptisphere strategy C18-HQ, 5 µm, 250 × 21.2 mm). The mobile phase was composed of H₂O with TFA (0.0025%)/CH₃CN with a flow rate 250 mL/min. The chromatograms were monitored at 205, 215 and 360 nm. Semi-preparative HPLC was performed on an Agilent LC Series instrument (1200 Infinity Series – 1220, Les Ulis, France) equipped with an agilent G1329A sample injector, Jasco CO-4060 column oven (Lisses, France), agilent G1311A pump, Ultimate DAD3000 thermofisher detector (Villebon sur Yvette, France) and chromeleon® 7.2 software. An RP-C₁₈ prep column (Interchim uptisphere strategy C18(2), 5 µm, 250 × 10 mm, Montluçon, France). The mobile phase for semi-preparative HPLC was a mixture of H₂O with TFA (0.0025%) and CH₃CN with a flow rate of 5 mL/min. The chromatograms were monitored at 205, 215 and 360 nm. Analytical HPLC experiments were performed using a Thermofisher Ultimate 3000 (Thermo Fischer Scientific, Villebon sur Yvette, France), equipped with an LPG 3400 SD pump, a WPS 3000 SL injector and a UV-DAD-3000 detector with Chromeleon® software version 6.8 and an Interchim uptisphere strategy C18(2) column, 5 µm, 250 × 10 mm, using the same eluent as semi-preparative HPLC with a flow rate of 1 mL/min. The chromatograms were monitored at 205, 215 and 360 nm. Thin layer chromatography (TLC) was carried out on silica gel plates (Merck 60 F₂₅₄, Darmstadt, Germany) and visualized under UV lamps at 254 and 366 nm, then by spraying with 50% H₂SO₄, followed by heating. All solvents used for Flash chromatography were of analytical grade (Carlo Erba Reactifs SDS, Val de Reuil, France), and solvents used for analytical, semi-preparative and preparative HPLC were of HPLC grade (Carlo Erba Reactifs SDS, Val de Reuil, France). Trifluoroacetic acid (TFA) was purchased from Carlo Erba Reactifs SDS (Val de Reuil, France).

3.2. Plant material

The aerial parts of *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) Maire were

collected at Bouilhet, in the province of Oum el Bouaghi, northeast Algeria (latitude 35°43'53.1"N, longitude 6°41'34.0"E and altitude of 970 m) in May 2019. The plant was authenticated by Mr. Kamel Kabouche. A voucher specimen (LOST.Am.05.9.19) was preserved in the LOST laboratory of Université des Freres Mentouri-Constantine 1, Algeria.

3.3. Extraction and isolation

The dried powder of the aerial parts of *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) Maire (1 kg) was macerated in 70% EtOH (4 × 5 L, 24 h) at room temperature. After filtration and removal of the solvent by evaporation under reduced pressure, the dried 70% EtOH extract (300g, 30% yield) was dissolved in H₂O and then partitioned successively with EtOAc and *n*-BuOH. The *n*-BuOH extract (70 g) was fractionated by Diaion HP-20 resin column (4.3 40 cm), which was eluted with H₂O–MeOH (25, 50 and 100%, each 2 L), to obtain fractions A (10g), B (6g) and C (40g), respectively. Fraction C (40 g) (the saponin-containing fraction) was applied to vacuum liquid chromatography (VLC) over silica gel, using as eluent a mixture of CHCl₃–MeOH–H₂O (9:1:0, 8:2:0, 7:3:0, 7:3:0.1, 7:3:0.2, 7:3:0.5 and 100% MeOH) to give 7 fractions (C1–C7). The C4 (5.4 g), C6 (3.9 g) and C7 (5.1 g) fractions, were subjected to flash chromatography on RP-C₁₈, eluted by a gradient of (20 → 60% CH₃CN, in 35 min), to afford the fractions C4₁–C4₃₂, C6₁–C6₃₂ and C7₁–C7₃₁, respectively. Fractions C4₂₁ (1.1 g), C4₂₂₋₂₄ (600 mg) and C4₂₆₋₂₇ (500 mg) were purified by silica gel flash chromatography, using a gradient system of CHCl₃–MeOH–H₂O (8:2:0 → 7:3:2, in 45 min) to give 15 fractions C4_{21F1}–C4_{21F8}, C4_{22-24F1}–C4_{22-24F14} and C4_{26-27F1}–C4_{26-27F10}, respectively. Fraction C4_{21F7-8} (130 mg) was purified by flash chromatography over RP-C₁₈, eluted by a gradient of (25 → 60% CH₃CN, in 35 min), to obtain 4 fractions C4_{21F7-8F1-4}, including compound **1** (32.4 mg) as a pure compound in fraction C4_{21F7-8F3}. The purification of fraction C4_{21F7-8F4} (78.5 mg) was realized by semi-prep. HPLC with a gradient of (30 → 70% CH₃CN, in 30 min) to give compounds **11** (2.5 mg, *t*_R 15.8 min), **5** (5.3 mg, *t*_R 17.1 min) and **7** (1.1 mg, *t*_R 26.1 min). Fractions C4_{21F10-11} and C4_{22-24F14F5-6} were purified separately by preparative HPLC using the same gradient (30 → 50% CH₃CN, in 60 min) to afford compounds **6** (1.5 mg), **2** (2.7 mg) and **18** (1.3 mg) and compounds **17** (1.5 mg), **19** (2.4 mg), **14** (10.2 mg), **20** (1.4 mg) and **8** (2.8 mg), respectively. Fractions C4_{26-27F4} and C6₁₆ were purified separately by semi-prep HPLC with a gradient of (20 → 80% CH₃CN, in 45 min) to yield compounds **15** (2.8 mg, *t*_R 8.1 min), **9** (1.5 mg, *t*_R 11.8 min), and **3** (2.2 mg, *t*_R 12.8 min) from C4_{26-27F4} and compounds **12** (1.0 mg, *t*_R 18.1 min), **10** (1.4 mg, *t*_R 17.6 min), and **13** (1.5 mg, *t*_R 19.4 min) from C6₁₆. The fractions C6₁₄ and C7₂₂ were purified by preparative HPLC, eluted by the gradient (20 → 30% CH₃CN, in 45 min) to give compounds **23** (1.4 mg), **22** (1.2 mg), and **4** (3.0 mg) from C6₁₄, whereas the gradient (30 → 60% CH₃CN, in 45 min) was used for C7₂₂ to give compounds **16** (1.4 mg) and **21** (1.8 mg).

3.4. Monelloside A (1)

Amorphous white powder, [α]_D²⁰ –9.5 (c 0.10, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 1 and 2; HR-ESI-MS *m/z*: 1061.5537 [M-H][–] (calcd for C₅₂H₈₅O₂₂, 1061.5532).

3.5. Monelloside B (2)

Amorphous white powder, [α]_D²⁰ –3.0 (c 0.10, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 1 and 2; HR-ESI-MS *m/z*: 1223.6071 [M-H][–] (calcd for C₅₈H₉₅O₂₇, 1223.6061).

3.6. Monelloside C (3)

Amorphous white powder, [α]_D²⁰ –0.9 (c 0.20, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 1 and 2; HR-ESI-MS

m/z : 1103.5629 [M-H]⁻ (calcd for C₅₄H₈₇O₂₃, 1103.5638).

3.7. Monelloside D (4)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} + 3.2$ (c 0.28, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 1 and 2; HR-ESI-MS m/z : 1253.6169 [M-H]⁻ (calcd for C₅₉H₉₇O₂₈, 1253.6166).

3.8. Monelloside E (5)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} + 12.8$ (c 0.25, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 1 and 2; HR-ESI-MS m/z : 1091.5646 [M-H]⁻ (calcd for C₅₃H₈₇O₂₃, 1091.5638).

3.9. Monelloside F (6)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} + 1.3$ (c 0.15, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 3 and 4; HR-ESI-MS m/z : 1295.6633 [M-H]⁻ (calcd for C₆₂H₁₀₃O₂₈, 1295.6636).

3.10. Monelloside G (7)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} + 10.0$ (c 0.11, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 3 and 4; HR-ESI-MS m/z : 1133.6107 [M-H]⁻ (calcd for C₅₆H₉₃O₂₃, 1133.6108).

3.11. Monelloside H (8)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} - 9.3$ (c 0.14, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 3 and 4; HR-ESI-MS m/z : 1221.5913 [M-H]⁻ (calcd for C₅₈H₉₃O₂₇, 1221.5904).

3.12. Monelloside I (9)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} - 5.5$ (c 0.11, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 3 and 4; HR-ESI-MS m/z : 1059.5370 [M-H]⁻ (calcd for C₅₂H₈₃O₂₂, 1059.5376).

3.13. Monelloside J (10)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} + 15.7$ (c 0.14, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 5 and 6; HR-ESI-MS m/z : 1221.5911 [M-H]⁻ (calcd C₅₈H₉₃O₂₇, 1221.5904).

3.14. Monelloside K (11)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} - 1.2$ (c 0.25, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 5 and 6; HR-ESI-MS m/z : 1059.5367 [M-H]⁻ (calcd for C₅₂H₈₃O₂₂, 1059.5376).

3.15. Monelloside L (12)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} - 1.7$ (c 0.12, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 5 and 6; HR-ESI-MS m/z : 1089.5490 [M-H]⁻ (calcd for C₅₃H₈₅O₂₃, 1089.5482).

3.16. Monelloside M (13)

Amorphous white powder; $[\alpha]_D^{20} + 2.5$ (c 0.12, MeOH); ¹H (600 MHz, CD₃OD) and ¹³C (150 MHz, CD₃OD) data: see Tables 5 and 6; HR-ESI-MS m/z : 927.4966 [M-H]⁻ (calcd for C₄₇H₇₅O₁₈, 927.4953).

3.17. Acid hydrolysis

The acid hydrolysis of fraction C (200 mg) rich in saponins was realized with 35 mL of 2 N TFA (trifluoroacetic acid, aqueous solution)

at 90 °C for 4h. After extraction with CH₂Cl₂ (10 mL × 3), the aqueous phase was concentrated under vacuum to obtain the sugar residues (100 mg). Three sugars was confirmed by comparison on TLC with pure samples of glucose, xylose and arabinose, using (MeCOEt:iso-PrOH: Me₂CO:H₂O, 20:10:7:2). The purification of sugars by preparative TLC using the same solvent system afford L-arabinose [5.9 mg, R_f = 0.52, $[\alpha]_D^{20} + 31.7$ (c 0.5, H₂O)]; D-glucose [10 mg, R_f = 0.46, $[\alpha]_D^{20} + 56$ (c 0.9, H₂O)] and D-xylose [3.2 mg, R_f = 0.63, $[\alpha]_D^{20} + 15.3$ (c 0.3, 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 gratefully acknowledging MESRS Algeria for the PNE grant to M. Chouaib Aouane, ICMR-UMR-7312 as well as URCA PLANE platform (University Reims Champagne-Ardenne) for giving the possibility to perform all the necessary manipulations for the realization of this publication. Anthony Robert et Carine Machado-Rodrigues were also acknowledge for NMR and MS spectra recording, respectively.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113305>.

References

- Ahmad, V.U., Sultana, V., Arif, S., Saqib, Q.N., 1988. Saponins from *Primula denticulate*. *Phytochemistry* 27 (1), 304–306. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80644-7](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80644-7).
- Aliotta, G., De Napoli, L., Giordano, F., Piccialli, G., Piccialli, V., Santacroce, C., 1992. An oleanane triterpene from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry* 31 (3), 929–933. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80041-C](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80041-C).
- Altunkeyik, H., Gülcemal, D., Masullo, M., Alankus-Kaliskan, O., Piacente, S., Karayildirim, T., 2012. Triterpene saponins from *Cyclamen hederifolium*. *Phytochemistry* 73, 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.09.003>.
- Ammar, S., Mahjoub, M.A., Abdelkader, Ben-Abdalkader, H., Liouane, K., Skandrani, L., Chekir-ghehira, L., Mighri, Z., 2008. Mutagenic, antimutagenic and antioxidant activities of a new polyphenolic and a flavonoid substances isolated from *Anagallis monelli*. *Nat. Prod. Res.* 22 (8), 658–665. <https://doi.org/10.1080/14786410701669287>.
- Amoros, M., Girre, R., 1987. Structure of two antiviral triterpene saponins from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry* 26 (3), 787–791. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)84787-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)84787-1).
- Bechkri, S., Alabdul Magid, A., Sayagh, C., Berrehal, D., Harakat, D., Voutquenne-Nazabadioko, L., Kabouche, Z., 2020. Triterpene saponins from *Silene gallica* collected in North-Eastern Algeria. *Phytochemistry* 172, 112274. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112274>.
- Bencharif-Betina, S., Miyamoto, T., Tanaka, C., Kabouche, Z., Mitaine-Offer, A.-C., Lacaille-Dubois, M.A., 2012. Two new triterpene saponins from *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter. *Helv. Chim. Acta* 95, 1573–1580. <https://doi.org/10.1002/hlca.201200041>.
- Bloor, S.J., Qi, L., 1994. Cytotoxic saponins from New Zealand *Myrsine* species. *J. Nat. Prod.* 57, 1354–1360. <https://doi.org/10.1021/np50112a004>.
- Çalis, I., Satana, M.E., Yürüker, A., Kelican, P., Demirdamar, R., Alaçam, R., Tanker, N., Rügger, H., Sticher, O., 1997a. Triterpene saponins from *Cyclamen mirabile* and their biological activities. *J. Nat. Prod.* 60 (3), 315–318. <https://doi.org/10.1021/np960658j>.
- Çalis, I., Yürüker, A., Tanker, N., Wright, A.D., Sticher, O., 1997b. Triterpene saponins from *Cyclamen coum* var. *coum*. *Planta Med.* 63 (2), 166–170. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957637>.
- Dai, L.-M., Huang, R.-Z., Zhang, B., Hua, J., Wang, H.-S., Liang, D., 2017. Cytotoxic triterpenoid saponins from *Lysimachia foenum-graecum*. *Phytochemistry* 136, 165–174. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.01.021>.
- Dall'Acqua, S., Castagliuolo, I., Brun, P., Ditadi, F., Palù, G., Innocenti, G., 2010. Triterpene glycosides with in vitro anti-inflammatory activity from *Cyclamen repandum* tubers. *Carbohydr. Res.* 345 (5), 709–714. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.12.028>.
- De Napoli, L., Piccialli, G., Piccialli, V., Santacroce, C., Carolla, R., 1992. Two oleanane triterpenes from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry* 31 (11), 3965–3968. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97564-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97564-2).
- El Hosry, L., Di Giorgio, C., Birer, C., Habib, J., Tueni, M., Bun, S.-S., Herbette, G.-T., De Meo, M., Ollivier, E., Elias, R., 2014. In vitro cytotoxic and anticlastogenic activities of saxifragifolin B and cyclamin isolated from *Cyclamen persicum* and *Cyclamen*

- libanoticum*. Pharm. Biol. 52 (9), 1134–1140. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.879600>.
- Foubert, K., Theunis, M., Apers, S., Vlietinck, A.J., Pieters, L., 2008. Chemistry, distribution and biological activities of 13, 28-epoxy-oleanane saponins from the plant families Myrsinaceae and Primulaceae. *Curr. Org. Chem.* 12 (8), 629–642. <https://doi.org/10.2174/138527208784577376>.
- Glombitza, K.W., Kurth, H., 1987a. Die Struktur einiger Triterpensaponine aus *Anagallis arvensis*. *Planta Med.* 53 (6), 548–555. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962809>.
- Glombitza, K.W., Kurth, H., 1987b. Saponine aus *Anagallis arvensis* L. (Primulaceae). *Arch. Pharm.* 320 (10), 1083–1087. <https://doi.org/10.1002/ardp.198700012>.
- Hao, G., Yuan, Y.M., Hu, C.M., Ge, X.J., Zhao, N.X., 2004. Molecular phylogeny of *Lysimachia* (Myrsinaceae) based on chloroplast trnL-F and nuclear ribosomal ITS sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 31, 323–339. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(03\)00286-0](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(03)00286-0).
- Heitz, S., Billet, D., Raulais, D., 1971. Triterpenes d'*Anagallis arvensis* L. (Primulaceae). I. Structure de l'anagalligénone B. *Soc. Chim. France Bull.* 230–243.
- Hifnawy, M.S., Aboseada, M.A., Hassan, H.M., AboulMagd, A.M., Tohamy, A.F., Abdel-Kawi, S.H., Rateb, M.E., El-Naggar, E.B., Liu, M., Quinn, R.J., Alhadram, H.A., Abdelmohsen, U.R., 2020. Esticular caspase-3 and β -catenin regulators predicted via comparative metabolomics and docking studies. *Metabolites* 10 (1), 31. <https://doi.org/10.3390/metabo10010031>.
- Huang, X.A., Liang, Y.J., Cai, X.L., Feng, X.Q., Zhang, C.H., Fu, L.W., 2009. Four new cytotoxic oligosaccharidic derivatives of 12-oleanene from *Lysimachia heterogena* Klatt. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (23), 6515–6518. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.10.056>.
- Huang, X.-A., Shen, X.-L., Hu, Y.-J., Liu, Y.-M., Liu, K.-L., Zhang, F.-X., Zhou, X.-X., 2011. Two new triterpenoids from *Lysimachia heterogena* Klatt and evaluation of their cytotoxicity. *Molecules* 16, 8076–8082. <https://doi.org/10.3390/molecules16098076>.
- Ishikura, N., 1981. Flavonoids in the petal cells of *Anagallis arvensis* f. *coerulea* containing a blue crystalline anthocyanin. *Z. Pflanzenphysiol.* 103 (5), 469–473. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(81\)80170-5](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(81)80170-5).
- Jia, Z., Koike, K., Ohmoto, T., Ni, M., 1994. Triterpenoid saponins from *Ardisia crenata*. *Phytochemistry* 37, 1389–1396. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90418-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90418-7).
- Jansakul, C., Baumann, H., Kenne, L., Samuelsson, G., 1987. Ardisiacrispin A and B, two utero-contracting saponins from *Ardisia crispata*. *Planta Med.* 53 (5), 405–409. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962758>.
- Källersjö, M., Bergqvist, G., Anderberg, A., 2000. Generic realignment in primuloid families of the Ericales s.l.: a phylogenetic analysis based on DNA sequences from three chloroplast genes and morphology. *Am. J. Bot.* 87 (9), 1325–1341. <https://doi.org/10.2307/2656725>.
- Kawashy, S.A., El-Garf, I.A., El-Negoumy, S.I., 1998. Chemosystematics of *Anagallis arvensis* L. (Primulaceae). *Biochem. Systemat. Ecol.* 26 (6), 663–668. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(98\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(98)00008-8).
- Kohda, H., Takeda, O., Tanaka, S., 1989. Molluscicidal triterpenoidal saponin from *Lysimachia sikokiana*. *Chem. Pharm. Bull.* 37 (12), 3304–3305. <https://doi.org/10.1248/cpb.37.3304>.
- Kitagawa, I., Matsuda, A., Yosioka, I., 1972. Saponin and sapogenol. VII. Sapogenol constituents of five primulaceous plants. *Chem. Pharm. Bull.* 20 (10), 2226–2234. <https://doi.org/10.1248/cpb.20.2226>.
- Kitagawa, I., Ikenishi, Y., Yoshikawa, M., Yosioka, I., 1976. Saponin and sapogenol. XVII. Structure of sakuraso-saponin, a pentaglycoside of protoprimulagenin A from the root of *Primula sieboldii*. *E. Morren. Chem. Pharm. Bull.* 24 (10), 2470–2479. <http://doi.org/10.1248/cpb.24.2470>.
- Koczurkiewicz, P., Czyz, J., Podolak, I., Wojcik, K., Galanty, A., Janeczko, Z., Michalik, M., 2015. Multidirectional effects of triterpene saponins on cancer cells - mini-review of *in vitro* studies. *Acta Biochim. Pol.* 62 (3), 383–393. <https://doi.org/10.18388/abp.2015.1089>.
- Lakhal, H., Kabouche, A., Alabdul Magid, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Harakat, D., Kabouche, Z., 2014. Triterpenoids from *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. & Trab. and their chemotaxonomic significance. *Phytochemistry* 102, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.03.009>.
- Lavaud, C., Massiot, G., Barrera, J.B., Moretti, C., Le Men-Olivier, L., 1994. Triterpene saponins from *Myrsine pellucida*. *Phytochemistry* 37 (6), 1671–1677. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89590-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89590-4).
- Lehbil, M., Alabdul Magid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Morjani, H., Harakat, D., Kabouche, Z., 2018. Triterpenoid saponins from *Scabiosa stellata* collected in North-eastern Algeria. *Phytochemistry* 150, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.03.005>.
- Liang, B., Tian, J.-K., Xu, L.-Z., Yang, S.L., 2006. Triterpenoid saponins from *Lysimachia davurica*. *Chem. Pharm. Bull.* 54 (10), 1380–1383. <https://doi.org/10.1248/cpb.54.1380>.
- Liang, D., Hao, Z.Y., Zhang, G.J., Zhang, Q.J., Chen, R.Y., Yu, D.Q., 2011. Cytotoxic triterpenoid saponins from *Lysimachia clethroides*. *J. Nat. Prod.* 74 (10), 2128–2136. <https://doi.org/10.1021/np2004038>.
- López, V., Jäger, A., Akerreta, S., Covero, R., Calvo, M., 2011. Pharmacological properties of *Anagallis arvensis* L. ("scarlet pimpernel") and *Anagallis foemina* Mill. ("blue pimpernel") traditionally used as wound healing remedies in Navarra (Spain). *J. Ethnopharmacol.* 134 (3), 1014–1017. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.036>.
- Mahato, S.B., Sahu, N.P., Roy, S.K., Sen, S., 1991. Structure elucidation of four new triterpenoid oligoglycosides from *Anagallis arvensis*. *Tetrahedron* 47 (28), 5215–5230. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)87133-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87133-7).
- Manns, U., Anderberg, A.A., 2009. New combinations and names in *Lysimachia* (Myrsinaceae) for species of *Anagallis*, *Pelletiera* and *Trientalis*. *Willdenowia* 39, 49–54. <https://doi.org/10.3372/wi.39.39103>.
- Manns, U., Anderberg, A.A., 2011. Biogeography of 'tropical Anagallis' (Myrsinaceae) inferred from nuclear and plastid DNA sequence data. *J. Biogeogr.* 38 (5), 950–961. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02454.x>.
- Mihci-Gaidi, G., Ozbey, S., Orhan, I., Sener, B., Miyamoto, T., Mirjolet, J.F., Duchamp, O., Mitaine-Offer, A.C., Lacaille-Dubois, M.A., 2010. Triterpene saponins from *Cyclamen trocoperanthum*. *Planta Med.* 76 (8), 818–821. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240727>.
- Mu, L.-H., Gong, Q.-Q., Zhao, H.-X., Liu, P., 2010. Triterpenoid saponins from *Ardisia gigantifolia*. *Chem. Pharm. Bull.* 58 (9), 1248–1251. <https://doi.org/10.1248/cpb.58.1248>.
- Netala, V.R., Ghosh, S.B., Bobbu, P., Anitha, D., Tarte, V., 2015. Triterpenoid saponins: a review on biosynthesis, applications and mechanism of their action. *Int. J. Pharm. Pharmacut. Sci.* 7 (1), 24–28.
- Podolak, I., Elas, M., Cieszka, K., 1998. *In vitro* antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from *Lysimachia vulgaris* L. *Phytother. Res.* 12, 2. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(1998\)12:1<S70::AID-PTR254>3.0.CO;2.S709](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(1998)12:1<S70::AID-PTR254>3.0.CO;2.S709).
- Podolak, I., Galanty, A., Sobolewska, D., 2010. Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Rev.* 9, 425–474. <https://doi.org/10.1007/s11101-010-9183-z>.
- Podolak, I., Koczurkiewicz, P., Galanty, A., Michalik, M., 2013. Cytotoxic triterpene saponins from the underground parts of six *Lysimachia* L. species. *Biochem. Systemat. Ecol.* 47, 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.10.003>.
- Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In: Retrieved from French National Center for Scientific Research, pp. 726–727.
- Rastogi, J., Norula, J., 1980. Chemical investigations of *Anagallis arvensis* flowers. *J. Indian Chem. Soc.* 57, 761–762.
- Reznicek, G., Jurenitsch, J., Robien, W., Kubelka, W., 1989. Saponins in *Cyclamen* species: configuration of cyclamiretin C and structure of isocyclamin. *Phytochemistry* 28 (3), 825–828. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80123-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80123-2).
- Saxena, S., Rao, P., 2021. Pharmacological and phytochemical assessment of *Anagallis arvensis* L. leaf extracts. *Asian J. Chem.* 33 (8), 1831–1841. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2021.23265>.
- Shoji, N., Umeyama, A., Yoshikawa, K., Arihara, S., 1994a. Triterpenoid glycosides from *Anagallis arvensis*. *Phytochemistry* 37 (5), 1397–1402. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90419-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90419-9).
- Shoji, N., Umeyama, A., Yoshikawa, K., Arihara, S., 1994b. Structures of anagallosaponins I-V and their companion substances from *Anagallis arvensis* L. *Chem. Pharm. Bull.* 42 (9), 1750–1755. <https://doi.org/10.1248/cpb.42.1750>.
- Soberón, J.R., Sgariglia, M.A., Pastoriza, A.C., Soruco, E.M., Jäger, S.N., Labadie, G.R., Sampietro, D.A., Vattuone, M.A., 2017. Antifungal activity and cytotoxicity of extracts and triterpenoid saponins obtained from the aerial parts of *Anagallis arvensis* L. *J. Ethnopharmacol.* 203, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.056>.
- Stevens, P.F., 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and More or Less Continuously Updated since]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Tian, J.K., Xu, L.Z., Zou, Z.M., Yang, S.L., 2006. Three novel triterpenoid saponins from *Lysimachia capillipes* and their cytotoxic activities. *Chem. Pharm. Bull.* 54 (4), 567–569. <https://doi.org/10.1248/cpb.54.567>.
- Valdes, B., Talavera, S., Fernandez-Galiano, E., 1987. Flora vascular de Andalucía Occidental. Ketres editora, 1, p. 465.
- Waltho, J.P., Williams, D.H., Mahato, S.B., Pal, B.C., Barna, J.C.J., 1986. Structure elucidation of two triterpenoid tetrasaccharides from *Androsace saxifragifolia*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1527–1531. <https://doi.org/10.1039/P19860001527>.
- Yasmeen, Z., Basit, A., Tahir, S., 2020. Traditional uses and pharmacological effects of *Anagallis arvensis*: a Review. *Int. J. Front. Sci.* 4, 97–100. <https://doi.org/10.37978/tijfs.v4i2.294>.
- Yosioka, I., Nishimura, T., Watani, N., Kitagawa, I., 1967. On the unexpected identity of theasapogenol D (= camelliagenin A), a minor sapogenol of tea seeds, with dihydropriverogenin A. *Tetrahedron Lett.* 8 (52), 5343–5347. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)89675-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)89675-1).
- Zhang, X.R., Peng, S.L., Wang, M.K., Ding, L.S., 2002. A new triterpenoid saponin from *Lysimachia candida*. *Zhongcaoyao* 33 (6), 481–483.

ملخص

في هذا العمل نقدم الدراسة الفيتوكيميائية و الفعالية ضد الاكسدة لنبتتين جزائريتين *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) من عائلة *Primulaceae* و *Arenaria cerastioides* (Poir.) من عائلة *Caryophyllaceae*. ادت هذه الدراسة الى عزل وتحديد 26 مركبا منها 13 صابونوزيد اصلية حيث تمت تنقيتها باستعمال تقنيات كروماتوغرافية مختلفة (CCM VLC, CC, CCF, CLP) و (CLHP) تم تحديد بنى هذه المركبات بواسطة مطيافية الرنين المغناطيسي احادي وثنائي البعد RNM 1D 2D منها HRESIMS، مطيافية الكتلة، ^1H ^{13}C COSY HSQC HMBC TOCSY ROESY، قياس قدرة الدوران بالإضافة الى المقارنة مع المراجع المتوفرة.

تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات باستعمال ثلاثة طرق هي DPPH ABTS و CUPRAC اظهرت النتائج ان المستخلص **Far/A** للنبته *Arenaria cerastioides* Poir. له نشاط ممتاز مقارنة مع المركبات القياسية BHT و BHA و يليه المستخلص (Fan/A).

الكلمات المفتاحية: *Saponosides, Anagallis monelli, Primulaceae, Caryophyllaceae, Arenaria cerastioides*, النشاط المضاد للاكسدة.

Résumé

La présente étude est dédiée à l'étude phytochimique et évaluation du potentiel antioxydant de deux plantes *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) de la famille *Primulaceae* et *Arenaria cerastioides* (poir.) de la famille *Caryophyllaceae*. Cette étude a permis d'isoler, par les méthodes chromatographiques (CCM, VLC, CC, CCF, CLP et CLHP), 26 composés dont 13 saponosides inédits. Leurs structures ont été élucidées, principalement, par l'utilisation des techniques de RMN 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC, TOCSY et ROESY), par la spectrométrie de masse haute résolution (HR-ESI-MS), par la mesure des pouvoirs rotatoires $[\alpha]^D$ et par la comparaison avec les données de la littérature.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante a été réalisée par usage de trois méthodes : DPPH, ABTS et CUPRAC. Les résultats des tests ont montré que l'extrait **Far/A** de la plante *Arenaria cerastioides* possède une excellente activité antioxydante comparativement aux standards BHT et BHA suivi de l'extrait **Fan/A**.

Mots clés:

Caryophyllaceae, *Primulaceae*, *Anagallis monelli*, *Arenaria cerastioides*, Saponosides, Activité antioxydante.

Abstract

The present study focused on the phytochemical investigation and the evaluation of the antioxidant activity of two plants: *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* (L.) (*Primulaceae*) and *Arenaria cerastioides* (poir.) (*Caryophyllaceae*). A total of 26 compounds were isolated, including 13 new saponins, using various chromatographic methods such as TLC, VLC, CC, FCC, PLC, and HPLC. The structures of the isolated compounds were elucidated using 1D (^1H and ^{13}C) and 2D (COSY, HSQC, HMBC, TOCSY, and ROESY) NMR techniques, high-resolution mass spectrometry (HR-ESI-MS) and by comparison with literature data, along with measurement of optical rotation $[\alpha]^D$.

The antioxidant activity was evaluated using three methods: DPPH, ABTS, and CUPRAC. The results showed that the acetate extract of the *Arenaria cerastioides* species (**Far/A**) exhibited excellent antioxidant activity compared to standards BHT and BHA, followed by the acetate extract of *Anagallis monelli* ssp. *linifolia* species (**Fan/A**).

Key words :

Caryophyllaceae, *Primulaceae*, *Anagallis monelli*, *Arenaria cerastioides*, Saponins, antioxidant Activity.