

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique**

**Université Mouloud Mammeri de
Tizi-Ouzou**

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري تيزي وزو

كلية الطب

قسم الصيدلة

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES MÉDICALES

Intitulée

RECHERCHE DE COMPOSÉS BIOACTIFS À PARTIR DE PLANTES MÉDICINALES ISSUES DE LA BIODIVERSITÉ ALGÉRIENNE

Soutenue publiquement le 15/11/2021 par :

Amina DAHMOUNE-AKKOUCHE

JURY

Président	Pr. Wahiba AMHIS	Université d'Alger
Directeur	Pr. Dalila SMATI	Université d'Alger
Co-directeur	Pr. Marie-Aleth LACAILLE-DUBOIS	Université de Bourgogne
Examinateur	Pr. Anne-Claire MITAINE-OFFER	Université de Bourgogne
Examinateur	Pr. Nabila AMIROUCHE	USTHB-Alger
Examinateur	Pr. Fayçal BOUALI	Université d'Alger

Année 2021

Remerciements

Mes chaleureux remerciements à toutes les personnes qui ont soutenu cette recherche, qui est le fruit de plusieurs collaborations.

Toute ma gratitude à ma directrice de thèse, madame le Professeur **Dalila SMATI**, de l'université d'Alger, pour m'avoir poussée et initiée dans ce travail, pour l'accompagnement, l'encouragement, la patience, et la confiance qu'elle m'a témoignés tout au long de cette thèse et surtout pour ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter ma réflexion. J'espère que vous allez trouver dans ce travail le reflet de recherche que vous avez toujours souhaité voir dans notre discipline.

Je tiens à remercier très chaleureusement ma co-directrice de thèse, madame le Professeur **Marie-Aleth LACAILLE-DUBOIS**, de l'université de Bourgogne (France), qui m'a accueillie au sein de son laboratoire et qui m'a beaucoup apporté pendant la réalisation de ce travail (et en particulier dans l'interprétation des spectres RMN). Vous m'avez dirigé avec dynamisme, rigueur et engagement. C'est un immense honneur pour moi d'avoir bénéficié de vos conseils et de votre encadrement. Veuillez trouver ici, ma profonde reconnaissance.

A madame le Professeur **Wahiba AMHIS**, de l'université d'Alger, pour avoir accepté d'être le président de jury, et pour sa gentillesse et son humilité, je vous adresse mes chaleureux remerciements.

A madame le Professeur **Anne-Claire MITAINE-OFFER**, de l'université de Bourgogne (France), qui a accepté d'examiner ce travail, je vous exprime ma sincère gratitude.

A madame le Professeur **Nabila AMIROUCHE**, de l'USTHB-Alger, recevez mes remerciements pour avoir accepté d'être membre de jury, et pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

A monsieur le Professeur **Fayçal BOUALI**, de l'université d'Alger, qui a aimablement accepté de juger ce travail, je vous exprime ma profonde reconnaissance.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance au Professeur **Tomofumi MIYAMOTO**, le Professeur **Chiaki TANAKA**, de l'université de Kyushu, Fukuoka (Japon), et le Professeur **Thomas PAULULAT**, de l'université de Siegen (Allemagne) pour leur aide inappréciable dans la réalisation des spectres de masse et des spectres RMN.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire de pharmacognosie, à l'UFR science de santé de Dijon : **David, Simon, Anne-Sophie, Bastien, Hung, et Walid** pour leur aide technique, pour leur encouragement, et pour leur enthousiasme.

Merci également au professeur **Karim HOUALI**, et à Monsieur **Hilal SEBANE**, de l'université de Tizi Ouzou, pour m'avoir accueillie au sein de leur laboratoire afin de réaliser l'activité antibactérienne, et de m'avoir fait découvrir le monde merveilleux des bactéries.

J'adresse également de vifs remerciements à Monsieur **ZineEddine CHEKIRED**, chercheur au niveau de l'INRF, et à Dr. **Nedjma Mounira CHERCHALI** pour avoir contribué aux tests de germination et à l'analyse du sol.

Je tiens également à remercier les résidents et les internes en pharmacie qui ont participé à la réalisation des enquêtes ethnobotaniques.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants, et toutes les personnes qui par leurs conseils et leurs critiques m'ont orientée, et ont accepté à répondre à mes questions durant mes recherches.

Dédicaces

À mon père, celui qui m'a dotée d'une éducation digne.

À ma mère, ma force et ma source de valeurs

À mon mari, ma source de joie et d'affection

À mon fils, mon soleil le plus éclatant

À mes frères, mes sœurs, mes tantes, mes complices éternels

*À mes beaux parents, qu'ils trouvent ici ma reconnaissance
totale et absolue*

À tous les membres de ma famille et de ma belle famille

À tous mes amis

À la mémoire de mes grands parents

*Et de tous ceux qui sont partis plutôt et qu'on n'oubliera
jamais*

Acronymes et abréviations

°C	Degré Celsius
µg	microgramme
µl	microlitre
1D	MONODIMENSIONNELLE
2D	BIDIMENSIONNELLE
δ	Déplacement chimique mesuré en ppm
¹³ C	isotope du carbone avec une masse de 13 uma (unité masse atomique)
¹ H	proton
ATCC	American Type Culture Collection
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
APG	Angiosperm Phylogeny Group
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
CC	Chromatographie sur Colonne ouverte
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CD ₃ OD	Méthanol deutéré
CHCl ₃	Chloroforme
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COSY	COrelated SpectroscopY
CPG	Chromatographie à Phase Gazeuse
DMSO	DiMéthylSulfOxyde
d	doublet
dd	doublet de doublet
DPPH	2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyle
IC ₅₀	Concentration efficace ou concentration inhibitrice nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres.
EAG	Equivalent d'Acide Gallique
EC	Equivalent de Catéchine
EQ	Equivalent de Quercétine
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
ESI	ElectroSpray Ionisation
EtOH	Ethanol
MF	MacFarland

Acronymes et abréviations

FeCl₃	Chlorure ferrique
Fuc	Fucose
g	gramme
Glc	Glucose
H₂O	Eau
HMBC	H eteronuclear M ultiple- B ond C orrelation spectroscopy
HPLC	H igh P erformance L iquid C hromatography
HPTLC	H igh P erformance T hin L ayer C hromatography
HSQC	H eteronuclear S ingle- Q uantum C orrelation spectroscopy
Hz	H ertz
J	Constante de couplage mesurée en Hz
mm	m illimètre
M	M ole
m	m ultiplet
MeOH	M éthanol
MH	M uller H inton
mg	m illigramme
ml	m illiliter
min	m inutes
MPLC	M edium P ressure L iquid C hromatography
MS	M atière S èche
MS	M ass S pectrometry
m/z	Rapport entre la masse et le nombre de charges élémentaires d'ions
nm	n anomètre
nd	N on D éterminé
NOESY	N uclear O verhauser E ffect S pectroscop Y
OH	H ydroxyle
OMS	L' Organisation M ondiale de la S anté
ppm	P arts P er M illion
RP	R eversed P hase
Rh	R hamnose
ROESY	R otating-frame O verhauser E ffect S pectroscop Y
s	s ingulet
Si	S ilice
SM	S pectrométrie de M asse

Acronymes et abréviations

t	triplet
TOCSY	Total CORrelation SpectroscopY
UFC	Unité Formant Colonie
uma	unite de masse moléculaire
VLC	Vacuum Liquid Chromatography

Liste des tableaux	Pages
Tableau 1 : Usages traditionnels du genre <i>Asphodelus</i> en Algérie.....	22
Tableau 2 : Données chimiques sur <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	27
Tableau 3 : Données chimiques sur quelques espèces du genre <i>Asphodelus</i>	34
Tableau 4 : Structure de saikosaponines isolées du genre <i>Bupleurum</i>	55
Tableau 5 : Activités pharmacologiques de quelques espèces d' <i>Asphodelus</i>	65
Tableau 6 : Activités pharmacologiques de quelques espèces du genre <i>Bupleurum</i>	71
Tableau 7 : Situation des stations de l'enquête ethnobotanique.....	79
Tableau 8 : Situation géographique et données bioclimatiques des stations de prélèvement des échantillons d' <i>A. tenuifolius</i> et de <i>B. spinosum</i>	83
Tableau 9 : Description et pouvoir pathogène des souches de bactéries, utilisées lors de cette étude.....	126
Tableau 10 : Liste de plantes médicinales recensées à Bouira, Tizi Ouzou, Boumerdès, Bejaia, Tipaza, et Batna.....	131
Tableau 11 : Liste de plantes médicinales recensées à Ghardaïa.....	143
Tableau 12 : Conditions opératoires du test de germination des graines d' <i>A.</i> <i>tenuifolius</i> Cav.....	183
Tableau 13 : Résultats du test de germination des graines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	183
Tableau 14 : Conditions opératoires du test de germination des graines de <i>B.</i> <i>spinosum</i> Gouan.....	184
Tableau 15 : Résultats du test de germination des graines de <i>B. spinosum</i> Gouan	184
Tableau 16 : Résultats de l'analyse physicochimique du sol prélevé à Oued Zergoun	185
Tableau 17 : Résultats de l'analyse granulométrique du sol prélevé à Oued Zergoun.	185
Tableau 18 : Résultats de l'analyse physicochimique du sol prélevé au col de Tirourda.....	185
Tableau 19 : Résultats de l'analyse granulométrique du sol prélevé au col de Tirourda.....	186
Tableau 20 : Résultats du screening phytochimique des différents organes d' <i>A.</i> <i>tenuifolius</i> Cav.....	187
Tableau 21 : Résultats du screening phytochimique des différents organes de <i>B.</i> Gouan.....	188
Tableau 22 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits de <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	190
Tableau 23 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits de <i>B. spinosum</i>	

Gouan.....	191
Tableau 24 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé AT2 dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).....	192
Tableau 25 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé AT3 dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).....	198
Tableau 26 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé AT6 dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).....	202
Tableau 27 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé AT7 dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).....	206
Tableau 28 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé AT8 dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).....	211
Tableau 29 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS1 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	217
Tableau 30 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS2 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	228
Tableau 31 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS3 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	236
Tableau 32 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS4 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	242
Tableau 33 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS5 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	249
Tableau 34 : Déplacements chimiques RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) de la génine, des sucres du composé BS6 dans la pyridine d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	256
Tableau 35 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS7 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	263
Tableau 36 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé BS8 dans la pyridine-d ₅ (δ en ppm, J en Hz).....	270
Tableau 37 : Valeurs des IC 50 des extraits d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	277
Tableau 38 : Valeurs des IC 50 des extraits de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	278
Tableau 39 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition en mm) des différents extraits d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	279
Tableau 40 : CMI (en mg/ml) des différents extraits d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	279
Tableau 41 : CMB (en mg/ml) des différents extraits d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	280

Tableau 42 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition en mm) du Chloramphénicol.....	280
Tableau 43 : CMI (en $\mu\text{g/ml}$) du Chloramphénicol.....	280
Tableau 44 : CMB (en $\mu\text{g/ml}$) du Chloramphénicol.....	280
Tableau 45 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition en mm) des différents extraits <i>de B. spinosum</i> Gouan	281
Tableau 46 : CMI (en mg/ml) des différents extraits <i>de B. spinosum</i> Gouan.....	281
Tableau 47 : CMB (en mg/ml) des différents extraits <i>de B. spinosum</i> Gouan.....	281

Figure 1 : Squelette et configuration des génines stéroïdiques des saponines (Bruneton, 2009).....	44
Figure 2 : Exemple de génines triterpéniques (Bruneton, 2016).....	46
Figure 3 : Arbre phylogénétique montrant les sous-classes de plantes à partir desquelles les saponines ont été isolées et caractérisées (Vincken et al., 2007).....	48
Figure 4 : Structure de saikosaponines (Pan, 2006).....	54
Figure 5 : Situation géographique des stations de l'enquête ethnobotanique.....	80
Figure 6 : Fiche de collecte de données.....	82
Figure 7 : Localisation des stations de prélèvements des échantillons d' <i>A. tenuifolius</i> et de <i>B. spinosum</i>	84
Figure 8 : Réaction du chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau - Gayon et Gautheret., 1968).....	104
Figure 9 : Corrélations observées à l'aide de différentes expériences bidimensionnelles (Mannase., 2013).....	114
Figure 10 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	115
Figure 11 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des parties aériennes d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.	116
Figure 12 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	117
Figure 13 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des racines d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	118
Figure 14 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	119
Figure 15 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des racines de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	120
Figure 16 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des racines de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	121
Figure 17 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	123
Figure 18 : Importantes familles utilisées selon le nombre d'espèces médicinales.....	147
Figure 19 : Répartition de la population interviewée selon l'âge.....	148
Figure 20 : Répartition des plantes utilisées selon le mode de préparation.....	148
Figure 21 : Répartition des plantes utilisées selon les parties utilisées.....	149

Figure 22 : Répartition des plantes utilisées selon les pathologies traitées.....	150
Figure 23 : <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. dans son milieu écologique (Photo Dahmoune, 2017).....	152
Figure 24 : Port général d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. (Photo Dahmoune, 2017).....	152
Figure 25 : Racines d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. (Photo Dahmoune, 2017).....	153
Figure 26 : Feuille d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. (Photo Cherchali, 2019).....	153
Figure 27 : Inflorescence d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. (Photo Dahmoune, 2017).....	153
Figure 28 : Fleur d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. (Photo Dahmoune, 2017).....	154
Figure 29 : a. Coupe longitudinale au niveau de la fleur d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. vue à la loupe binoculaire. b. Coupe transversale au niveau de la fleur d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. vue à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).....	154
Figure 30 : Gynécée d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. vu à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).....	155
Figure 31 : Etamine d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. vue à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).....	155
Figure 32 : Capsule d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. vue à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).....	155
Figure 33 : Graines plissées d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav. vues à la loupe binoculaire (photo Dahmoune, 2017).....	156
Figure 34 : Diagramme floral d' <i>A. tenuifolius</i> Cav (Photo Dahmoune, 2017).....	156
Figure 35 : Grains de pollen d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. observés au microscope optique au G 40 X 10 (Photo Cherchali, 2019).....	157
Figure 36 : <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan dans son milieu écologique (Photo Dahmoune, 2020).....	157
Figure 37 : Port général de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan (Photo Dahmoune, 2020).....	158
Figure 38 : Inflorescence de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan (Photo Dahmoune, 2020)...	158
Figure 39 : Fleur de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan a. vue de face. b. vue de profil, observée en loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2020).....	159
Figure 40 : Coupe transversale au niveau de l'ovaire de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan observée au microscope optique au G 10 X 10 (Photo Dahmoune, 2020).....	159
Figure 41 : Diakène de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan (Photo Dahmoune,	

2020).....	160
Figure 42 : Diakène de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan vu à la loupe binoculaire (Photo Dahmoue, 2020).....	160
Figure 43 : Diagramme floral de <i>B. spinosum</i> Gouan (Photo Dahmoue, 2020).....	160
Figure 44 : Grain de pollen de <i>B. spinosum</i> Gouan observé au microscope optique au G 40 X 10 (Photo Dahmoue, 2020).....	161
Figure 45 : Section transversale d'ensemble de la racine d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 4X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	162
Figure 46 : Section transversale d'ensemble de la racine d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	163
Figure 47 : Détail du subéroïde dans la section transversale de la racine d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	163
Figure 48 : Détail d'un faisceau cribro-vasculaire dans la section transversale de la racine d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	163
Figure 49 : Section transversale d'ensemble de la tige d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	164
Figure 50 : Section transversale de la tige d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoue, 2017).....	164
Figure 51 : Détail du faisceau cribro-vasculaire observé dans la section transversale de la tige d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	165
Figure 52 : Section transversale d'ensemble d'une feuille d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G10X10 (Photo Cherchali, 2019).....	166
Figure 53 : Détail du faisceau cribro-vasculaire observé dans la section transversale de la feuille d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	166
Figure 54 : Détail de l'épiderme observé dans la section transversale de la feuille d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoue, 2017).....	167
Figure 55 : Section transversale de la racine de <i>B. spinosum</i> Gouan, au microscope optique, G10X10 (Dahmoue, 2020).....	168
Figure 56 : Détail du cylindre central observé dans la section transversale de la racine	

de <i>B. spinosum</i> Gouan, au microscope optique, G10X40 (Photo Dahmoune, 2020).....	168
Figure 57 : Section transversale d'ensemble de la tige de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoune, 2020).....	170
Figure 58 : Détail de l'épiderme dans la section transversale de la tige de de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2020)	170
Figure 59 : Section transversale de la tige de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2020).....	170
Figure 60 : Section transversale d'ensemble de la feuille de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoune, 2020).....	171
Figure 61 : Section transversale de la feuille de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2020).....	172
Figure 62 : Détail d'un tissu conducteur dans la section transversale de la feuille de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2020)	172
Figure 63 : Epiderme avec stomates dans la poudre des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. vu de face, au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	173
Figure 64 : Débris du parenchyme chlorophyllien et de l'épiderme dans la poudre des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav., vus au microscope optique, Gr 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	173
Figure 65 : Débris de vaisseaux spiralés dans la poudre des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	174
Figure 66 : Débris de vaisseaux réticulés dans la poudre des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.s vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	174
Figure 67 : Débris d'un parenchyme dans la poudre des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	174
Figure 68 : Fragment du subéroïde dans la poudre des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	175
Figure 69 : Fragment du tissu vasculaire dans la poudre des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	175
Figure 70 : Débris de vaisseaux ponctués dans la poudre des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	176
Figure 71 : Débris de vaisseaux rayés dans la poudre des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.	

vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	176
Figure 72 : Débris de vaisseaux spiralés dans la poudre des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	176
Figure 73 : Débris du parenchyme dans la poudre des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	177
Figure 74 : Fragment de l'épiderme avec stomates dans la poudre des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	177
Figure 75 : Fragment du tissu vasculaire dans la poudre des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, Gr 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	178
Figure 76 : Gros vaisseau réticulé dans la poudre des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2020).....	178
Figure 77 : Fragment du parenchyme dans la poudre des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2020).....	179
Figure 78 : Fragment du tissu vasculaire montrant un gros vaisseau ponctué et le parenchyme ligneux dans la poudre des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2020).....	180
Figure 79 : Vaisseaux spiralés dans la poudre des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2020).....	180
Figure 80 : Fragment du suber des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	180
Figure 81 : Gros vaisseau ponctué dans la poudre des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, Gr 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	181
Figure 82 : Vaisseau spiralé dans la poudre des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, Gr 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	181
Figure 83 : Fragment du parenchyme dans la poudre des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan vu au microscope optique, Gr 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).....	182
Figure 84 : Graines germées d' <i>A. tenuifolius</i> Cav. (Cherchali., 2019).....	183
Figure 85 : Graines germées de <i>B. spinosum</i> Gouan (Chekired., 2021).....	184
Figure 86 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'étalon acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	189
Figure 87 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'étalon quercitine pour le dosage des flavonoïdes.....	189

Figure 88 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'étalon catéchine pour le dosage des tanins.....	190
Figure 89 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé AT2	192
Figure 90 : Spectre RMN ¹ H du composé naturel AT2	193
Figure 91 : Spectre HSQC du composé AT2	195
Figure 92 : Structure du composé naturel AT2	195
Figure 93 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé AT3	196
Figure 94 : Spectre RMN ¹ H du composé AT3	197
Figure 95 : Structure du composé AT3	199
Figure 96 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé AT6	200
Figure 97 : Spectre HSQC du composé AT6	201
Figure 98 : Spectre HMBC du composé AT6	203
Figure 99 : Structure chimique du composé naturel AT6	203
Figure 100 : Spectre de masse en ESI-MS en mode négatif du composé AT7	204
Figure 101 : Spectre HSQC du composé AT7	205
Figure 102 : Structure du composé naturel AT7	207
Figure 103 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé AT8	208
Figure 104 : Spectre RMN ¹ H du composé AT8	209
Figure 105 : Spectre HSQC du composé AT8	210
Figure 106 : Structure du composé naturel AT8	212
Figure 107 : Comparaison des profils obtenus en HPLC analytique pour les composés BS5 et BS6 (A : composé BS5 , B : composé BS6).....	213
Figure 108 : Comparaison des profils obtenus en HPLC analytique pour les composés BS2 et BS3	213
Figure 109 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS1	214
Figure 110 : Spectre RMN ¹ H du composé BS1 (zone des méthyles).....	215
Figure 111 : Spectre HSQC du composé BS1	216
Figure 112 : Corrélation ² J _{H-C} , ³ J _{H-C} , et ⁴ J _{H-C} des protons CH ₃ -24 dans la génine du composé BS1	218
Figure 113 : Corrélation ² J _{H-C} , ³ J _{H-C} , et ⁴ J _{H-C} des protons CH ₃ -25, CH ₃ -26 et CH ₃ -27 dans la génine du composé BS1	218
Figure 114 : Corrélation ² J _{H-C} , ³ J _{H-C} , et ⁴ J _{H-C} des protons CH ₃ -29 et CH ₃ -30 dans la génine du composé BS1	219

Figure 115 : Spectre HMBC du composé BS1 montrant les corrélations des méthyles.	
Figure 116 : Spectre NOESY de la partie aglycone du composé BS1	220
Figure 117 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS1	222
Figure 118 : Spectre HMBC du composé BS1 montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres.....	223
Figure 119 : Structure du nouveau composé naturel BS1	224
Figure 120 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS2	225
Figure 121 : Spectre RMN ¹ H du composé BS2 (zone des méthyles).....	226
Figure 122 : spectre HSQC du composé BS2	227
Figure 123 : Spectre HMBC du composé BS2 montrant les corrélations des méthyles..	230
Figure 124 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS2	231
Figure 125 : Spectre HMBC du composé BS2 montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres.....	231
Figure 126 : Structure du nouveau composé naturel BS2	232
Figure 127 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS3	233
Figure 128 : Spectre RMN ¹ H du composé BS3 (zone des méthyles).....	234
Figure 129 : Spectre HSQC du composé BS3	235
Figure 130 : Spectre HMBC du composé BS3 montrant les corrélations des méthyles..	237
Figure 131 : Structure du nouveau composé naturel BS3	238
Figure 132 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS4	239
Figure 133 : Spectre RMN ¹ H du composé BS4 (zone des méthyles).....	240
Figure 134 : Spectre HSQC du composé BS4	241
Figure 135 : Spectre HMBC du composé BS4 montrant les corrélations des méthyles..	243
Figure 136 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS4	244
Figure 137 : Spectre HMBC du composé BS4 montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres.....	245
Figure 138 : Structure du nouveau composé naturel BS4	246
Figure 139 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS5	247
Figure 140 : Spectre RMN ¹ H du composé BS5 (zone des méthyles).....	248
Figure 141 : Spectre HSQC du composé BS5	248
Figure 142 : Spectre HMBC du composé BS5 (zone montrant les corrélations des méthyles).....	250
Figure 143 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS5	251

Figure 144 : Spectre HMBC montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres du composé BS5	251
Figure 145 : Structure du composé naturel BS5	252
Figure 146 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS6	253
Figure 147 : Spectre RMN ¹ H du composé BS6	254
Figure 148 : Spectre HSQC du composé BS6	255
Figure 149 : Spectre HMBC du composé BS6 montrant les corrélations des méthyles de l'aglycone.....	257
Figure 150 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS6	258
Figure 151 : Spectre HMBC du composé BS6 montrant les corrélations des protons anomères.....	259
Figure 152 : Structure du composé BS6	259
Figure 153 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS7	260
Figure 154 : Spectre RMN ¹ H du composé BS7 (zone des méthyles).....	261
Figure 155 : Spectre HSQC du composé BS7	262
Figure 156 : Spectre HMBC du composé BS7 montrant les corrélations des méthyles de l'aglycone.....	264
Figure 157 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS7	265
Figure 158 : Spectre HMBC du composé BS7 montrant les corrélations des protons anomères.....	266
Figure 159 : Structure du composé naturel BS7	267
Figure 160 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS8	268
Figure 161 : Spectre RMN ¹ H du composé BS8 (zone des méthyles).....	268
Figure 162 : Spectre HSQC du composé BS8	269
Figure 163 : Spectre HMBC du composé BS8 montrant les corrélations des méthyles..	271
Figure 164 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé BS8	272
Figure 165 : Spectre HMBC du composé BS8 montrant les corrélations des anomères.....	273
Figure 166 : Structure du composé naturel BS8	274
Figure 167 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	275
Figure 168 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35)	

des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	276
Figure 169 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	276
Figure 170 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	277
Figure 171 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	278
Figure 172 : Résultats du test de l'activité antibactérienne des racines de <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.....	282
Figure 173 : Microplaque 24 h après incubation (Pour la Détermination des CMI des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan par la méthode de microdilution).....	283

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Acronymes et abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table des matières	
Introduction générale	1
Partie I. Synthèse bibliographique	
I. Ethnobotanique et chimiotaxonomie	
I.1. De la plante aux composés bioactifs.....	5
I.2. Stratégies de recherche de composés bioactifs à partir de plantes.....	8
I.2.1. D'anciens déchets de biosynthèse aux composés de grand intérêt.....	8
I.2.2. Présentation des stratégies de recherche.....	9
I.2.2.1. Ethnobotanique médicale.....	9
I.2.2.2. Chimiotaxonomie.....	12
I.2.2.3. Ecologie chimique et bio-inspiration.....	13
I.3. Hommes et plantes en Algérie.....	13
II. Etude botanique	
II.1. Flore algérienne.....	16
II.2. Ordre des Asparagales.....	16
II.2.1. Famille des <i>Asphodelaceae</i>	16
II.2.2. Genre <i>Asphodelus</i>	17
II.2.3. <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	18
II.2.4. Usages traditionnels du genre <i>Asphodelus</i>	18
II.3. Ordre des Apiales.....	22
II.3.1. Famille des <i>Apiaceae</i>	22
II.3.2. Genre <i>Bupleurum</i>	23
II.3.3. <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	23
II.3.4. Usages traditionnels du genre <i>Bupleurum</i>	24
III. Travaux phytochimiques antérieurs	
III.1. Travaux phytochimiques antérieurs sur les genres étudiés.....	25
III.1.1. Genre <i>Asphodelus</i>	25
III.1.2. Genre <i>Bupleurum</i>	41
III.2. Les saponines.....	41
III.2.1. Généralités sur les saponines.....	41
III.2.2. Structure chimique des saponines.....	42
III.2.3. Biogenèse.....	46
III.2.4. Distribution.....	46
III.2.5. Extraction.....	48
III.2.6. Isolement et purification.....	49

III.2.7. Caractérisation.....	49
III.2.8. Détermination structurale des saponines.....	51
IV. Travaux biologiques antérieurs	
IV.1. Activités biologiques des saponines.....	62
IV.2. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Asphodelus</i>	
IV.3. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Bupleurum</i>	69
IV.4. Le stress oxydant.....	72
IV.4.1. Définition.....	72
IV.4.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	72
IV.4.3. Origine des ERO.....	73
IV.4.4. Effets délétères des ERO.....	73
IV.4.5. Les antioxydants.....	74
IV.5. Résistances aux antibiotiques.....	75
IV.6. Potentiel antimicrobien des substances naturelles.....	76
Partie II. Matériels et méthodes	
I. Enquête ethnobotanique	
I.1. Zones d'enquête.....	78
I.2. Méthodes d'enquête.....	80
I.3. Outil d'enquête.....	81
II. Matériel végétal	
II.1. Récolte du matériel végétal.....	83
II.2. Séchage et conservation des plantes récoltées.....	84
III. Etude botanique	
III.1. Etude morphologique.....	85
III.2. Etude histo-anatomique.....	85
III.3. Etude des poudres.....	86
III.4. Test de germination des graines.....	87
IV. Analyse du sol	
IV.1. Prélèvements du sol.....	89
IV.2. Méthodes d'analyses du sol.....	90
IV.3. Mesure de la conductivité électrique.....	90
IV.4. Mesure du pH.....	90
IV.5. Dosage du carbone organique par la méthode Anne.....	91
IV.6. Détermination de la matière organique totale.....	92
IV.7. Dosage de l'azote par la méthode Kjeldhal.....	92
IV.8. Dosage du calcaire total par la méthode de calcimètre de Bernard.....	94
IV.9. Analyse granulométrique.....	95
V. Screening phytochimique	
V.1. Screening phytochimique.....	98
V.1.1. Caractérisation des alcaloïdes.....	98
V.1.2. Caractérisation des tanins.....	99
V.1.3. Caractérisation des flavonoïdes.....	100

V.1.4. Caractérisation des saponines.....	100
V.1.5. Caractérisation des dérivés anthracéniques.....	100
V.1.6. Caractérisation des Hétérosides cardiotoniques.....	101
V.1.7. Caractérisation des stérols et triterpènes.....	101
V.1.8. Caractérisation des coumarines.....	102
V.2. Dosage des principales classes chimiques.....	102
V.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	102
V.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	103
V.2.3. Dosage des tanins.....	104
VI. Extraction, Isolement, purification et détermination structurale de métabolites secondaires	
VI.1. Méthodes chromatographiques.....	106
VI.1.1. Méthodes chromatographiques analytiques.....	106
VI.1.1.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	106
VI.1.1.2. Chromatographie Liquide Haute Pression (HPLC).....	106
VI.1.2. Méthodes chromatographiques préparatives.....	107
VI.1.2.1. Chromatographie Liquide sous Vide (VLC).....	107
VI.1.2.2. Chromatographie flash.....	107
VI.1.2.3. Chromatographie d'exclusion stérique.....	108
VI.1.2.4. Chromatographie Liquide Moyenne Pression (MPLC).....	108
VI.2. Détermination structurale.....	109
VI.2.1. Hydrolyse acide et analyse par Chromatographie à Phase Gazeuse (CPG).....	109
VI.2.2. Méthodes spectroscopiques.....	110
VI.2.2.1. Spectrométrie de Masse (SM).....	110
VI.2.2.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	111
VI.2.2.2.1. Spectroscopie de RMN monodimensionnelle.....	112
VI.2.2.2.1.1. RMN du proton (RMN ¹ H).....	112
VI.2.2.2.1.2. RMN du carbone 13 (RMN ¹³ C).....	112
VI.2.2.2.2. Spectroscopie de RMN bidimensionnelle homonucléaires.....	112
VI.2.2.2.2.1. COrelated SpectroscopY (COSY).....	112
VI.2.2.2.2.2. Total COrelation SpectroscopY (TOCSY).....	113
VI.2.2.2.2.3. Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY (ROESY).....	113
VI.2.2.2.3. Spectroscopie de RMN bidimensionnelle hétéronucléaire.....	113
VI.2.2.2.3.1. Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC).....	113
VI.2.2.2.3.2. Heteronuclear Multiple Bond Coherence (HMBC).....	113
VI.3. Investigations phytochimiques.....	114
VI.3.1. Etude phytochimique d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	114
VI.3.1.1. Etude phytochimique des parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	114
VI.3.1.1.1. Extraction des métabolites secondaires.....	114
VI.3.1.1.2. Séparation et fractionnement des métabolites secondaires.....	115
VI.3.1.1.3. Isolement et purification des métabolites secondaires.....	115
VI.3.1.2. Etude phytochimique des racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	116
VI.3.1.2.1. Extraction des métabolites secondaires.....	116

VI.3.1.2.2. Séparation et fractionnement des métabolites secondaires.....	117
VI.3.1.2.3. Isolement et purification des métabolites secondaires.....	117
VI.3.2. Etude phytochimique des racines de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	119
VI.3.2.1. Extraction des métabolites secondaires.....	119
VI.3.2.2. Séparation et fractionnement des métabolites secondaires.....	119
VI.3.2.3. Isolement et purification des métabolites secondaires.....	119
VI.3.2.4. Contrôle des composés isolés purs par HPLC analytique.....	122
VII. Etude biologique	
VII.1. Activité anti-oxydante (Test du piégeage du radical libre DPPH).....	123
VII.1.1. Principe.....	123
VII.1.2. Mode opératoire.....	123
VII.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	124
VII.2.1. Choix des micro-organismes testés.....	125
VII.2.2. Procédure de diffusion sur gélose.....	126
VII.2.2.1. Préparation des précultures.....	126
VII.2.2.2. Préparation de l'inoculum bactérien.....	126
VII.2.2.3. Milieu de culture.....	127
VII.2.2.4. Préparation des extraits à tester.....	127
VII.2.2.5. Ensemencement et dépôt des disques.....	127
VII.2.2.6. Lecture et interprétation des résultats.....	127
VII.2.3. Détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) par la méthode de microdilution.....	127
VII.2.3.1. Préparation de la solution de résazurine.....	128
VII.2.3.2. Préparation des microplaques.....	128
VII.2.3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	129
Partie III. Résultats	
I. Enquête ethnobotanique	
I. Enquête ethnobotanique.....	130
II. Choix des plantes étudiées.....	150
II. Etude Botanique	
II.1. Etude morphologique.....	152
II.1.1. <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	152
II.1.1.1. Appareil végétatif.....	152
II.1.1.2. Appareil reproducteur.....	153
II.1.1.3. Analyse du grain de pollen.....	156
II.1.2. <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	157
II.1.2.1. Appareil végétatif.....	157
II.1.2.2. Appareil reproducteur.....	158
II.1.2.3. Analyse du grain de pollen.....	161
II.2. Etude histo-anatomique.....	162
II.2.1. <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	162
II.2.1.1. Anatomie de la racine.....	162
II.2.1.2. Anatomie de la tige.....	164

II.2.1.3. Anatomie de la feuille.....	165
II.2.2. <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	167
II.2.2.1. Anatomie de la racine.....	167
II.2.2.2. Anatomie de la tige.....	169
II.2.2.3. Anatomie du la feuille.....	171
II.3. Etude des poudres.....	173
II.3.1. <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	173
II.3.1.1. Parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	173
II.3.1.1.1. Caractères organoleptiques.....	173
II.3.1.1.2. Caractères microscopiques.....	173
II.3.1.2. Racines d' <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	175
II.3.1.2.1. Caractères organoleptiques.....	175
II.3.1.2.2. Caractères microscopiques.....	175
II.3.2. <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	177
II.3.2.1. Parties aériennes de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	177
II.3.2.1.1. Caractères organoleptiques.....	177
II.3.2.1.2. Caractères microscopiques.....	177
II.3.2.2. Racines de <i>B. spinosum</i> Gouan.....	180
II.3.2.2.1. Caractères organoleptiques.....	180
II.3.2.2.2. Caractères microscopiques.....	180
II.4. Test de germination des graines.....	183
II.4.1. <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	183
II.4.2. <i>B. spinosum</i> Gouan.....	183
III. Analyse du sol	
III.1. Sol prélevé à Oued Zergoun.....	185
III.2. Sol Prélevé au col de Tirourda.....	185
IV. Screening phytochimique	
IV.1. Screening phytochimique.....	187
IV.1.1. <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	187
IV.1.2. <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	188
IV.2. Dosage des principales classes chimiques.....	188
IV.2.1. <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	190
IV.2.2. <i>Bupleurum spinosum</i> Gouan.....	190
V. Extraction, Isolement, purification et détermination structurale de métabolites secondaires	
V.1. Composés isolés d' <i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.....	192
V.1.1. Description du composé AT2.....	192
V.1.2. Description du composé AT3.....	196
V.1.3. Description du composé AT6.....	200
V.1.4. Description du composé AT7.....	204
V.1.5. Description du composé AT8.....	208
V.2. Composés isolés de <i>Bupleurum spinosum</i> Cav.....	213
V.2.1. Description du composé BS1.....	214

V.2.2. Description du composé BS2.....	225
V.2.3. Description du composé BS3.....	233
V.2.4. Description du composé BS4.....	239
V.2.5. Description du composé BS5.....	247
V.2.6. Description du composé BS6.....	253
V.2.7. Description du composé BS7.....	260
V.2.8. Description du composé BS8.....	268

VI. Etude biologique

VI.1. Activité anti-oxydante.....	275
VI.1.1. <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	275
VI.1.2. <i>B. spinosum</i> Gouan.....	277
VI.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	279
VI.2.1. <i>A. tenuifolius</i> Cav.....	279
VI.2.2. <i>B. spinosum</i> Gouan.....	281

Partie IV. Discussion

Conclusion et perspectives.....	306
--	------------

Références bibliographiques

Annexes

Article

ملخص

Résumé

Abstract

Introduction générale

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque et romaine (Koffi et al., 2009). Certains de ces usages anciens sont aujourd'hui vérifiés par des études scientifiques. Les recherches pharmacologiques et chimiques menées pour identifier les effets des extraits de ces plantes ont conduit à la préparation de mélanges de constituants actifs (décoction, macération, percolation, infusion avec différents solvants), puis à la purification et à la détermination de structures des composés les plus actifs qui ont alors été commercialisés sous forme purifiée (Quetin-Leclerc, 2002). Au cours des 3 dernières décennies, jusqu'à 50 % des médicaments approuvés proviennent soit directement ou indirectement de produits naturels, y compris les plantes, les micro-organismes, les champignons et les animaux, par synthèse chimique, par hémisynthèse, ou par des méthodes biotechnologiques (Shakya, 2016).

En pratique, le screening et le criblage classique de dizaines de milliers d'extraits de plantes pour trouver une molécule intéressante peut demander plusieurs années et un investissement considérable. C'est pour cela que plusieurs stratégies peuvent être mises en place dans le but d'optimiser la recherche des composés actifs d'origine naturelle comme la chimiotaxonomie, l'écologie chimique et l'ethnopharmacologie (Michel, 2011).

L'examen des travaux effectués en ethnopharmacologie par différents auteurs au cours des dernières décennies ont permis de mettre en évidence les objectifs majeurs de ces recherches qui sont d'une part la participation à l'innovation pharmaceutique et d'autre part la valorisation des pharmacopées traditionnelles et des pratiques ancestrales très efficaces dans le traitement des maladies.

La médecine, aujourd'hui, doit répondre à deux grandes urgences : la lutte contre le sida et le cancer, et le renouvellement d'un arsenal thérapeutique bien démuni face, d'une part, à la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques (la tuberculose en est un exemple dramatique), et d'autre part, à celle des parasites responsables de maladies comme le paludisme qui déjoue de plus en plus les traitements disponibles (Launet, 1993). Il est donc urgent d'intensifier la prospection de nouvelles sources de molécules douées d'activités biologiques avec probablement des mécanismes d'action nouveaux, et la recherche de molécules qui peuvent potentialiser l'action des médicaments. Les plantes peuvent être une source intéressante de nouveaux composés actifs permettant d'enrichir l'arsenal thérapeutique et par conséquent de faire face à ce problème mondial majeur de santé. A cette fin, l'Algérie dispose d'une biodiversité floristique particulière, à laquelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle. Mais Malgré cette nature hétérogène d'une

biodiversité immense de l'Algérie, et bien que les populations anciennes aient utilisé une grande diversité de plantes pour soigner toutes sortes de maladies et d'affections, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. De plus, avec l'aridification, l'activité pastorale, de nombreuses espèces sont menacées et disparaissent donc avant qu'on ait pu les identifier et, a fortiori, analyser leur potentiel pharmacologique. Nous avons bien perçu l'urgence qu'il y avait à inventorier ces ressources et exploiter ce grand réservoir de plantes médicinales. Cet impératif répond à la double menace d'une érosion génétique sous un couvert végétal rare et à la perte d'un savoir populaire et des usages ancestraux dus à la sédentarisation progressive de la population algérienne (Maiza, 2007).

Le regain d'intérêt pour les plantes et la valorisation des pharmacopées traditionnelles transmises pendant des millénaires de père en fils ont conduit à la réalisation de plusieurs investigations ethnobotaniques par des équipes pluridisciplinaires de spécialistes expérimentés (botanistes, ethnologues, pharmacologues, etc), au nord de l'Afrique, parmi lesquels, on cite l'étude de la flore médicinale du nord de l'Afrique réalisée par Boulos (1983), la pharmacopée traditionnelle du Maroc réalisée par Bellakhdar (1997), l'étude ethnobotanique de la flore tunisienne réalisée par Le Floc'h (1983) et la pharmacopée traditionnelle saharienne du Sarah algérien réalisée par Maiza (2007), etc. Tous ces travaux permettent de constituer une base de données pour des recherches ultérieures dans les domaines de la phytochimie et de la pharmacologie afin de faciliter la découverte de nouvelles molécules bioactives.

La question principale qui se pose : peut-on réussir à sélectionner des espèces végétales susceptibles de fournir des composés bioactifs et d'avoir des propriétés pharmacologiques à partir de la flore médicinale utilisée traditionnellement par les populations locales algérienne, en utilisant des approches de recherche de composés bioactifs ?

Pour essayer de répondre à cette question, nous avons suivie une stratégie de recherche qui a consiste à :

- sélectionner des plantes potentiellement actives en se servant de données ethnopharmacologiques fournies au cours d'enquêtes réalisées auprès de la population algérienne, et de données chimiotaxonomiques.
- et de rechercher de nouvelles substances actives à partir des plantes déjà sélectionnées , qu'il s'agisse de molécules pures ou d'extraits, en mettant en œuvre des méthodes d'extraction, de fractionnement, et d'indentification de produits naturels. Cette partie du travail a été réalisée au laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Bourgogne Franche-

Comté à Dijon (France) qui a une longue expérience dans la recherche de nouvelles saponines d'origine végétale.

Le principal objectif de ce travail de thèse consiste à valoriser la flore médicinale algérienne.

Pour atteindre cet objectif, plusieurs objectifs secondaires devraient être fixés :

- contribuer à la conservation du patrimoine ethnobotanique algérien par la réalisation d'un inventaire floristique des plantes médicinales et la récolte du maximum d'informations sur leurs usages traditionnels.
- identifier, décrire, classer et nommer deux plantes sélectionnées de la flore médicinale algérienne par une étude botanique complète, et grâce à la consultation de flores de références.
- réaliser un profil phytochimique préliminaire par la mise en évidence de la présence des grandes familles chimiques (alcaloïdes, triterpènes, flavonoïdes, stérols, tanins et saponines) dans les extraits bruts des plantes étudiées.
- extraire, isoler, purifier et élucider la structure de nouveaux composés chimiques d'origine naturelle susceptibles d'avoir des propriétés biologiques intéressantes.
- déceler des propriétés biologiques des extraits des espèces végétales choisies en vue de confirmer leurs intérêts dans la médecine traditionnelle.

Notre travail est articulé autour de deux axes principaux :

Une première partie relative à une synthèse bibliographique portant sur l'ethnobotanique, les genres *Asphodelus* et *Bupleurum*, etc.

Une partie pratique consacrée à la présentation des méthodes utilisées pour réaliser nos travaux de recherches, ainsi que les résultats obtenus. Cette partie est partagée en plusieurs chapitres :

- le premier chapitre est dédié à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle algérienne.
- le deuxième chapitre est consacré à l'étude botanique d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. et de *Bupleurum spinosum* Gouan, ces deux plantes sont sélectionnées de la flore algérienne par des approches scientifiques.
- le troisième chapitre présente le screening phytochimique.
- le quatrième chapitre est consacré à une étude chimique, mettant en œuvre des méthodes d'extraction aux ultrasons et des méthodes chromatographiques, ces méthodes décrites ont permis l'extraction, l'isolement, et la purification de molécules pures d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. et de *Bupleurum spinosum* Gouan. Les méthodes spectroscopiques (spectroscopie de

Introduction générale

masse et résonance magnétique nucléaire) ont permis la détermination structurale des molécules pures isolées.

- le cinquième chapitre est, quant à lui, consacré à l'étude des activités antioxydantes et antibactériennes in vitro des extraits d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. et de *Bupleurum spinosum* Gouan.

Enfin une conclusion générale ainsi que des perspectives sur la continuité de ce travail ont été dégagées.

Partie I.

Synthèse bibliographique

*I. Ethnobotanique
et chimiotaxonomie*

I.1. De la plante aux composés bioactifs

Les plantes ont formé la base des systèmes de médecine traditionnelle pendant des milliers d'années. Des fossiles montrant que l'homme a utilisé les plantes comme médicament datent du Paléolithique moyen il y'a environ 60 000 ans ([Fabricant et Farnsworth, 2001](#)). La médecine traditionnelle africaine est la plus ancienne et peut être la plus diversifiée de tous les systèmes médicaux anciens. Malheureusement, elle est mal conservée jusqu'à ce jour. Les plantes médicinales célèbres africaines les plus connues incluent *Acacia senegal* (gomme arabique), *Agathosma betulina* (Buchu), *Aloe ferox* (Aloes du Cap), *Aloe vera* (Origine nord africaine), *Artemisia afra* (Armoise africaine), *Aspalanthus linearis* (thé Rooibos), *Boswellia sacra* (Frankincense), *Catha edulis* (Khat), *Commiphora myrrah* (Myrrhe), *Harpagophytum procumbens* (Griffe du diable), *Hibiscus sabdariffa* (Roselle), *Hypoxis hemerocallidea* (Pomme de terre africain), *Prunus africana* (Prunier d'Afrique). Le système de médecine chinoise, basé sur les concepts de Yin et de Yang, est supposé dater de plus de 5 000 ans, et a en particulier été décrit par l'empereur Shen Nung en 2 500 avant J.C. Les exemples de plantes médicinales chinoises célèbres sont *Angelica polymorpha* var. *sinensis* (dang gui), *Artemisia annua* (qing hao), *Ephedra sinica* (ma huang), *Paeonia lactiflora* (bai shao yao), *Panax ginseng* (ren shen) et *Rheum palmatum* (da huang) ([Gurib-Fakim, 2006](#)).

Les plantes ont été une source des agents thérapeutiques et continuent à fournir à l'humanité de nouveaux remèdes ([Liu et Wang, 2008](#)). Les Sumériens, installés en basse Mésopotamie, utilisaient des plantes médicinales et aromatiques telles que le cèdre (*Cedrus spp.*, Pinaceae), le cyprès (*Cupressus sempervirens* L., Cupressaceae), la myrrhe (*Commiphora spp.*, Burseraceae) ou le jus de pavot (*Papaver somniferum* L., Papaveraceae), encore utilisés aujourd'hui pour le traitement des maux s'étendant des toux aux infections parasitaires et inflammations. La médecine égyptienne a déjà utilisé l'ammî élevé (*Ammi majus*) pour le traitement du vitiligo, une maladie caractérisée par une perte de pigmentation au niveau de la peau. Récemment, une drogue (methoxypsoralen) a été produite à partir de cette plante pour traiter le psoriasis et d'autres affections de la peau, aussi bien que le lymphome à cellules T ([Gurib-Fakim, 2006](#)).

L'OMS a répertorié plus de 22 000 plantes utilisées dans les médecines traditionnelles. Dans certains pays en développement, jusqu'à 80 % des habitants continuaient à avoir recours à la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins au niveau des soins primaires ([OMS, 2007](#)). En Afrique, jusqu'à 80 % de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé. En Asie et en Amérique latine, les populations

continuent d'utiliser la médecine traditionnelle. En Chine, la médecine traditionnelle représente 40 % des soins de santé administrés (OMS, 2002).

Les plantes utilisent différents moyens pour se défendre des agressions de leur environnement que constituent les herbivores, les insectes, les bactéries, les moisissures, les rayons UV, etc. Certains de ces moyens de défense font appel à des composés chimiques qui interagissent avec le métabolisme de l'attaquant, étant alors intoxiqué et affecté, ce dernier pourrait être découragé de poursuivre son attaque (Bérubé-Gagnon, 2006). Les plantes renferment donc une large variété de molécules chimiques (terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc) de propriétés physico-chimiques très différentes (Bruneton, 1999, 2016). Ces produits sont appelés secondaires car ils ne participent pas directement aux processus vitaux du végétal et sont synthétisés secondairement à une réponse aux changements du milieu. Les métabolites produits par les organismes ont évolué, *via* la sélection naturelle, afin d'agir de façon physiologique ou écologique sur le maintien de l'organisme. Leur caractéristique principale est donc leur grande plasticité et diversité qui permet à l'individu concerné de s'adapter de façon flexible aux demandes d'un environnement en évolution constante. Ainsi, une plante ayant réussi à se maintenir dans son environnement aura à priori sélectionné les meilleurs voies de biosynthèse permettant de produire les métabolites secondaires adaptés (Hartmann, 2007 ; Simmonds, 2003). Du fait du nombre très élevé d'espèces des différents règnes, et du nombre de connaissances possibles pour que ces espèces interagissent, la chimio-diversité issue du vivant semble donc difficile à quantifier (Michel, 2011). Actuellement, le nombre de structures chimiques des composés répertoriés du métabolisme secondaire des plantes est de près 200 000 (Hartmann, 2007).

Certains de ces composés ont aussi une large variété d'activités pharmacologiques (antitumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydante, cicatrisante, etc) chez l'humain et peuvent donc servir de remèdes, selon de la dose utilisée (Bérubé-Gagnon, 2006). Il est par ailleurs aujourd'hui reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives. Le fondement de la pharmacologie moderne est issu de toutes ces connaissances sur les médicaments à base de plantes (Michel, 2011).

Il a été estimé que seulement environ 15 % des espèces végétales ont été étudiées sur le plan phytochimique, et seulement 6 % ont été étudiées pour leur potentiel pharmacologique. Cela signifie qu'un grand nombre de produits chimiques d'origine végétale avec un certain potentiel pharmaceutique restent à découvrir (Seidel, 2020).

Au 21^e siècle, les produits naturels représentent plus de 50 % de tous les médicaments utilisés en clinique (Shakya, 2016). Entre 1983 et 1994, près de 40 % des nouvelles drogues autorisées à être mises sur le marché aux Etats-Unis étaient dérivées de composés naturels (Simmonds, 2003) et environ 40 % des nouvelles entités chimiques, entre 1981 et 2014, étaient issues d'études portant sur les produits naturels. Dans le domaine des cancers, sur la période allant des années 1940 à 2014, sur les 175 molécules approuvées, 75 % (soit 131 molécules), sont non synthétique, et 49 % (avec 85 molécules) étant en fait soit des produits naturels, soit directement dérivés de ceux-ci. Dans d'autres domaines, l'influence des structures des produits naturels est assez marquée, la découverte de nouveaux produits anti-infectieux est dépendante de produits naturels et de leurs structures car un nombre important de ces produits sont en fait produits par des microbes et/ou des interactions microbiennes avec « l'hôte d'où il a été isolé » (Newman et Cragg, 2016).

Actuellement, plusieurs milliers de constituants végétaux sont utilisés dans les médicaments sous forme : a) de principes actifs purs, par exemple, digoxine, digitoxine, morphine, réserpine, taxol, vinblastine et vincristine ; b) de composés d'hémisynthèse (principes actifs modifiés), de plus haute activité et/ou de toxicité inférieure, par exemple, metformine, nabilone, oxycodone (et autres narcotiques analgésiques), taxotere, teniposide, vérapamil, et amiodarone, dont l'hémisynthèse est basée, respectivement, sur la galéguine, le Δ^9 -tetrahydrocannabinol, la morphine, le taxol, la podophyllotoxine, et la khelline ; c) d'extraits plus ou moins complexes, par exemple, extrait de *Ginkgo biloba* (Fabricant et Farnsworth, 2001).

Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel (Bérubé-Gagnon, 2006). À l'origine, ces ressources étaient employées sous leur forme brute, puis au fil du temps, la préparation d'extraits et de concentrés ont permis d'en intensifier l'effet médicinal. À partir du XIX^e siècle, les molécules responsables des effets thérapeutiques ont été isolées et ont servi de prototypes à l'élaboration de médicaments (Bérubé-Gagnon, 2006). Les premiers composés sont extraits des plantes grâce aux progrès de la chimie, permettant par exemple l'isolement de la morphine à partir de l'opium produit par les fruits de *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae) en 1806 par Sertürner ou celui de la quinine à partir du quinquina par les pharmaciens parisiens Pelletier et Caventou en 1820. Ces premières démonstrations du fait qu'un seul composé chimique est capable d'expliquer l'activité d'une drogue à base de plante ont initié la chimie des substances naturelles (Michel, 2011). Ensuite, les avancées en chimie

organique à la fin du 19^{ème} siècle ont permis le développement de médicaments dérivés de composés naturels par héli-synthèse comme la diacétylmorphine (1898) et l'acide acétylsalicylique (Lévesque, 2000). Pendant environ 150 années, la découverte de composés bioactifs s'est basée presque exclusivement sur l'isolement et l'élucidation de la structure de produits végétaux. Ceci a eu un grand impact sur le développement de la chimie organique et de l'industrie pharmaceutique moderne et a avancé les premières bases de la recherche biologique sur le métabolisme secondaire des plantes qui a commencé il y'a environ 50 ans (Hartmann, 2007).

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes.

I.2. Stratégies de recherche de composés bioactifs à partir de plantes

I.2.1. D'anciens déchets de biosynthèse aux composés de grand intérêt

Les métabolites secondaires se définissaient comme des composés issus du métabolisme des organismes vivants (plantes, champignons, bactéries, etc) mais qui n'étaient pas nécessaires pour les fonctions vitales de l'organisme, c'est-à-dire la nutrition, la croissance et la reproduction. N'importe quelle importance de ces composés pour le métabolisme primaire était longuement inconnue. Dans les années 50, les métabolites secondaires ont été considérés en tant que déchets de la biosynthèse ou des produits de désintoxication. Ce phénomène du métabolisme secondaire et sa différenciation à partir du métabolisme primaire a été reconnu par Julius Sachs en 1873 et précisé par Albrecht Kossel. Fraenkel (1959) met en lumière l'importance des métabolites secondaires des plantes dans la défense contre les agents chimiques et quelques années après, Ehrlich et Raven (1964) ont souligné le rôle des réponses réciproques entre les organismes étroitement liés écologiquement comme la base des variations génétiques dans la coévolution des papillons et des plantes. Les métabolites secondaires interviennent en particulier dans l'évolution, la survie des espèces, ainsi que dans les interactions entre individus de la même espèce ou d'espèces différentes, par leur implication dans les phénomènes de défense, de symbiose ou de pollinisation par exemple. Dans les vingt dernières années, les biologistes ont reconnu enfin le lien de causalité entre la diversité génétique et la plasticité du métabolisme secondaire dans son rôle écologique

indispensable dans les interactions dynamiques du règne végétal avec un environnement en constante évolution (Verpoorte, 1998 ; Hartmann, 2007). Ces produits qualifiés de secondaires renferment donc une large variété de structures chimiques (terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc) de propriétés physico-chimiques très différentes (Bruneton, 1999, 2016).

Actuellement, "les produits secondaires" est synonyme aux produits naturels, un terme plus généralement employé par les chimistes. Ces molécules allient à la fois des propriétés biologiques uniques et des structures chimiques complexes, ce qui explique un renouveau de l'intérêt porté à la recherche de composés bioactifs à partir des sources naturelles telles que les plantes. La « nature a produit merveilleusement les molécules complexes qu'aucun chimiste n'en pourrait jamais rêver » (Beghyn et al., 2008).

I.2.2. Présentation des stratégies de recherche

La recherche de composés possédant une activité thérapeutique ne peut toutefois pas être entreprise au hasard compte tenu du très grand nombre d'espèces végétales. Cette démarche doit donc être orientée. Pour une meilleure efficacité, plusieurs critères peuvent être utilisés afin de sélectionner des plantes susceptibles de contenir des métabolites secondaires présentant une activité, parmi lesquels la chimiotaxonomie (établissement de rapports entre la composition chimique des espèces et leur classification systématique), l'ethnobotanique médicale (études des plantes utilisées de façon traditionnelle à des fins thérapeutiques), l'écologie chimique (étude du rôle des composés chimiques dans la médiation des interactions biotiques) (Verpoorte, 1998).

I.2.2.1. Ethnobotanique médicale

Les scientifiques ont essayé de reconstruire les interactions préhistoriques entre l'homme et les plantes dans différents domaines tels que l'alimentation, la médecine et les textiles. C'est ainsi que le concept de botanique aborigène « *aborigian botany* » est proposé, par Stephen Powers, en 1875, pour essayer de comprendre le mode de vie des populations et les effets de l'environnement végétal sur celui-ci. Puis, en 1895, le terme d'« ethnobotanique » a été employé pour la première fois par John W. Harschberger, botaniste, écologue et taxonomiste américain. Il définissait sous le néologisme « *ethno-botany* » l'étude des « plantes utilisées par les peuples primitifs et aborigènes ». En 1916, le terme a été élargi par Robbins, Harrington et Freire Marreco et eux ont suggéré que la science d'ethnobotanique devrait inclure l'évaluation des connaissances des sociétés primitives et les effets de l'environnement végétal sur les coutumes, les croyances et l'histoire de la vie de peuples tribaux. Vingt cinq

ans plus tard, dans *The Nature and Status of Ethnobotany*, Volney Jones (1941) affirme que l'ethnobotanique « ne concerne pas seulement les usages des plantes » et propose une définition plus concise d'ethnobotanique : « étude de l'interaction entre les hommes primitifs et les plantes » (Gurib-Fakim, 2006 ; Valadeau, 2010). Ces nouvelles perspectives ne limitent plus l'ethnobotanique à la simple systématique, descriptions ou usages des plantes. Elle devient une science multidisciplinaire qui reconsidère la plante dans son environnement écologique et dans la culture à laquelle elle appartient. Dans ce cadre, Schultes (1967) élargit cette définition, dans les années qui ont suivi, et inclut les relations entre l'homme et la végétation de son environnement et il précise que l'ethnobotanique est « l'étude des relations entre l'homme et la végétation ambiante » (Gurib-Fakim, 2006 ; Valadeau, 2010).

L'ethnobotanique médicale étudie les propriétés pharmacologiques des plantes et des préparations utilisées en médecine traditionnelle et permet donc d'orienter la recherche de composés bioactifs (Bérubé-Gagnon, 2006). Cela comprend des observations sur le terrain, descriptions des remèdes populaires et leurs utilisations, identification botanique du matériel végétal employé, ainsi que des recherches phytochimiques et pharmacologiques (Süntar, 2019). La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux principes actifs. « Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs » (OMS, 1998).

Le fait que la sélection des plantes sur la base de données ethnobotaniques augmente le pourcentage de chance d'aboutir à un extrait actif est reconnu et démontré dans de nombreuses publications (Cordell, 1995 ; Fabricant et Farnsworth, 2001). Ce fait a été confirmé par une étude menée sur des plantes de Madagascar utilisées de façon traditionnelle pour le traitement du paludisme. A l'issue de ces travaux, 58.3% des plantes actives étaient issues de la médecine traditionnelle (Philippe et al., 1999). Fabricant (2001) a pu identifier 122 composés de structure définie, obtenus à partir de 94 espèces végétales seulement, qui sont employées globalement comme médicaments à travers le monde entier, et a démontré que 80% de ces derniers ont eu une utilisation traditionnelle identique ou connexe à l'utilisation courante de ces plantes. Svetaz et al (2010) ont mené une étude pour montrer la

valeur d'informations ethnomédicales pour la découverte de plantes antifongiques issues d'Amérique latine, une probabilité sensiblement plus élevée de détecter des plantes avec activité antifongique contre au moins un mycète a été trouvée quand les espèces sont sélectionnées sur la base de critères ethnopharmacologiques (40.3%) par rapport à des espèces sélectionnées au hasard (21.3%). Au sein de toutes les plantes antifongiques détectées, les plantes utilisées de façon traditionnelle ont montré des activités plus élevées.

Parmi les médicaments issus d'études ethnobotaniques figure la galanthamine, isolé pour la première fois à partir de *Galanthus woronowii* Losinsk (Amaryllidaceae) en 1952, approuvée et commercialisée sous le nom de Reminyl, en 2001, pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Cet alcaloïde a été découvert grâce à des études ethnobotaniques. [Heinrich et al \(2004\)](#) a tracé l'histoire de son développement, en passant de l'utilisation étendue en Europe de l'est, telle que la Roumanie, l'Ukraine, la Péninsule balkanique, d'une plante nommée perce-neige ou snow-drop (*Galanthus woronowii* Losinsk) sauvage pour soulager la douleur des nerfs en la frottant sur le front des malades, à son emploi dans les montagnes de Caucase (Russie Méridionale) par les villageois locaux pour traiter la poliomyélite chez les enfants, et finalement à l'introduction récente de la Galanthamine sur le marché des médicaments pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Enfin, l'ethnobotanique peut aboutir à la mise sur le marché d'extraits totaux ou de préparations phytothérapeutiques, comme dans le cas de NIPRISAN®, un phytomédicament développé et mis sur le marché au Nigéria, à partir de plantes utilisées en Afrique, par diverses communautés visant à alléger les problèmes de santé liés à la drépanocytose, et qui a démontré son efficacité lors d'essais cliniques ([Wambebe et al., 2001](#)). Certaines plantes sont en effet toujours actuellement utilisées sous forme d'extraits, la plus connue d'entre elles étant sans doute le *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae), cité dans le recueil « Shen Nung Pen T'sao » datant d'environ 2500 ans avant Jésus-Christ. L'extrait de *Ginkgo biloba* L. constitue un exemple de principe actif d'origine végétale, maintenant standardisé par l'industrie pharmaceutique ([Michel, 2011](#)).

L'utilisation d'informations ethnomédicales a contribué aux soins de santé dans le monde entier, bien que les efforts de l'exploiter aient été sporadiques. Il est fort possible que la masse de plantes à examiner, fournira des molécules chimiques à un plus grand taux que veut l'information ethnomédicale actuelle, mais « Ceux qui ne peuvent pas se rappeler de leur passé sont condamnés à le répéter » ([Fabricant et Farnsworth, 2001](#)).

En Algérie, les premiers travaux scientifiques sur la pharmacopée et la médecine traditionnelle algérienne ont été réalisés durant la première moitié du XX^{ème} siècle par des médecins de l'Institut Pasteur d'Algérie. A ce moment, ces quelques personnes encore d'un nombre limité s'intéressaient à l'étude des plantes médicinales algériennes, à l'instar de ce qui commençait à se faire dans quelques autres pays africains. [Foley \(1930\)](#) entomologiste, botaniste, et chercheur en pathologie et parasitologie humaine, avait publié un ouvrage sur la médecine Touareg d'Ahaggar, suite à sa mission scientifique du Hoggar (Sud algérien). La thèse réalisée par [Lasry \(1937\)](#) était consacrée à l'étude de la pharmacopée algérienne. [Aiguier \(1938\)](#) a fait une étude géographique et médicale de Djanet (Sud algérien). [Fourment et Roques \(1942\)](#) ont également répertorié les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Les ouvrages de [Reboul \(1953\)](#) et [Passager et Dorey \(1958\)](#) contiennent de nombreuses illustrations sur l'histoire médicale d'El Goléa et de Gourara (sud algérien). Ces travaux étaient le fruit de longues recherches qui n'étaient pas orientées uniquement vers les bibliothèques, mais dont le résultat n'était possible que grâce à un contact prolongé avec des faits et des coutumes consciencieusement observés sur place par les auteurs.

Depuis quelques années, ces études sont renforcées par des travaux réalisées et publiés, à travers le monde, par des enseignants chercheurs appartenant à différentes facultés, notamment ceux du laboratoire de Botanique Médicale et Cryptogamie de la faculté de pharmacie d'Alger. Les travaux de [Maiza \(1993, 2006, 2007\)](#) sur l'aspect ethnobotanique de la flore médicinale dans le Sahara algérien, ont permis de faire connaissances de 113 espèces médicinales appartenant à 36 familles. Actuellement, les données ethnobotaniques ([Ould Elhadj et al., 2003](#) ; [Meddour et al., 2010](#) ; [Boudjelal et al., 2013](#) ; [Chermat et al., 2015](#) ; [Benarba et al., 2015](#) ; [Ouelbani et al., 2015](#)) acquises sur la flore algérienne s'élargissent et laissent entrevoir des perspectives prometteuses en recherche phytochimiques et pharmacologiques.

I.2.2.2. Chimiotaxonomie

Bien que le nombre d'espèces végétales étudiées soit assez limité, il est possible d'identifier, à partir des données disponibles l'abondance de certains types de métabolites qui est généralement limité à quelques familles ou même genres. Ces connaissances peuvent être utilisées de différentes manières. Lorsqu'une piste intéressante est trouvée, et qu'une nouvelle source du composé ou des structures apparentées plus riche est recherchée, la chimiotaxonomie peut pointer vers des espèces végétales apparentées. La chimiotaxonomie peut être également utilisée comme indicateur négatif, par exemple, si un composé

cytotoxique sans valeur a été trouvé chez plusieurs espèces apparentées, le dépistage d'autres espèces apparentées pourrait être arrêté (Verpoorte, 1998).

I.2.2.3. Ecologie chimique et bio-inspiration

La sélection de composés bioactifs se fait à partir de sources déjà sélectionnées pour maximiser la diversité moléculaire. Les organismes connus pour manipuler les voies biochimiques d'autres organismes peuvent être des sources d'intérêt particulier. Ce concept de recherche de nouvelles substances actives à partir d'études réalisées en écologie chimique peut être décrit sous le nom de bio-inspiration. Cette stratégie oriente vers la recherche de composés qui affectent l'activité d'un récepteur humain, d'une enzyme, d'un canal ionique, ou toute étape d'une signalisation métabolique ou biochimique ciblée. Bien qu'un produit naturel découvert ne deviendra-t-il que rarement un médicament (sa puissance, sa sélectivité, la biodisponibilité et/ou la stabilité peuvent être insuffisantes), cela peut suggérer un type de structure qui interagirait avec la cible, servant de point de départ, c'est-à-dire qu'il peut s'agir d'un « chef de file ». Il est possible de concevoir, de façon routinière, de telles structures, simplement en fonction de la structure de notre cible (Caporale, 2000). Un récepteur isolé, s'il présente un intérêt pour l'industrie pharmaceutique ou phytopharmaceutique, servira ensuite de cible macromoléculaire pour la recherche de nouveaux ligands exogènes, naturels ou de synthèse. La diversité biologique génère une diversité chimique extraordinaire, et c'est en étudiant le mode d'action de certains composés de structure originale qu'ont été découverts de nouveaux récepteurs, cibles pour certaines pathologies. Les variations génétiques humaines qui prédisposent à (ou protègent contre) certaines maladies peuvent indiquer des cibles médicamenteuses importantes. La fumagilline, un antibiotique produit par une souche fongique est utilisé en clinique humaine dans le traitement d'infections chez les patients immunodéprimés et en apiculture. Il a également été montré que ce terpénoïde possédait une activité antiangiogénique par inhibition d'une protéine, la méthionine aminopeptidase (MetAP). La MetAP est devenue une nouvelle cible dans la recherche d'antitumoraux (Bagnères et Hossaert-Mckey, 2017).

I.3. Hommes et plantes en Algérie

L'Algérie est un pays d'Afrique du nord d'une superficie de 2 381 741 Km². Il est doté d'un littoral sur la mer Méditerranée et d'un intérieur désertique, le Sahara. Les pays voisins sont la Tunisie au nord-est, la Lybie à l'est, le Niger au sud-est, le Mali au sud-ouest, la Mauritanie est le Sahara occidental à l'ouest, et enfin le Maroc au nord-ouest. Le climat est varié, le

climat méditerranéen couvre le Nord, tandis qu'un climat désertique règne sur le Sud. L'Algérie se compose de deux sous-ensembles, le « Tell » au sens large (c'est-à-dire l'Algérie du Nord) et le Sahara algérien (c'est-à-dire les régions désertiques méridionales) (Véla., 2007). Les plaines et vallées du tell abritent la plus grande partie des terres fertiles du pays. La partie saharienne représente plus de 80 % de la superficie de l'Algérie (environ deux millions de kilomètres carrés) ; les principales formes de relief sont les regs (étendues pierreuses) et les ergs (dunes), avec au sud le massif du Hoggar et le plateau du tassili. L'aridité ne laisse place qu'à quelques oasis (INRAA, 2006).

Le patrimoine forestier couvre près de 4,1 millions d'hectares correspondant à 11,5 % du territoire national. Il est constitué de plusieurs écosystèmes à base d'essences principales réparties entre 70 % de résineux et 30 % de feuillus. D'autres types de végétations sont également présents en Algérie, comme les steppes dominées par quatre grands types de formations végétales : les formations à alfa (*Stipa tenacissima*), à armoise blanche (*Artemisia herba alba*), à sparte (*Lygeum spartum*) et à remt (*Artrophytum scoparium*). Les formations azonales sont représentées par les espèces psammophiles et les espèces halophiles, et des dayas à pistachier et jujubier. Au grand Sahara, on distingue : les ergs, les regs, les hamadas, les oueds, les ravines, La végétation de ces milieux est caractérisée par la prédominance d'*Aristida pungens*, *Ephedra alata*, *Retama retam*, *Genista sahariensis*, *Calligonum azel*, *Cyperus conglomeratus*, *Moltkia ciliata*, *Danthonia fragilis*, *Haloxylon scoparium*, *Fagonia glutinosa*, *Aristida adscensionis*, *Cymbopogon schoenanthus*, *Moricandia suffruticosa*, *Senecio flavus*, *Reseda villosa*, *Capparis forskahlea*, *Anabasis articulata*, *Zygophyllum simplex*, *Aerva persica*, *Solenostemma argel*, *Salvadora resica*, *Fica salicifolia*, *Pistacia atlantica* et *Zizyphus lotus*, *Panicum turgidum*, *Acacia raddiana*, *Acacia Maerua* et *Acacia Balanites*, *Acacia seyal*, *Acacia scorpioides* et *Cassia obovata*, *Zizyphus lotus ssp sahariensis* et *Zizyphus mauritania*, *Tamarix articulata*, et les oasis dont le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) occupe une place importante (INRAA, 2006).

Du fait de sa situation géographique stratégique entre l'Atlas tellien, saharien et le Sahara, l'Algérie a bénéficié de différentes cultures. Cet enrichissement est aussi lié aux événements historiques et au brassage de cette région par plusieurs conquêtes. L'histoire de l'Algérie s'insère dans l'histoire plus large du Maghreb et remonte à des millénaires. Le paléolithique inférieur est représenté par la civilisation acheuléenne. Il existe de nombreux gisements représentatifs de cette époque, tel que celui d'Aïn el Ahnech, près de Sétif, où les plus anciens restes d'hominidés ont été attestés. Durant le Paléolithique Moyen, l'Algérie était

exclusivement peuplée d'Homo Sapiens, associé avec la culture Maustérienne. Au Paléolithique supérieur, la civilisation Atérienne apparaît. Le centre d'avènement de cette culture est le site, d'où cette nomination, de Bir El Ater, au Sud de Tebessa en Algérie. Au Mésolithique, la culture Capsienne, était localisée dans la région de Constantine, le côté Ouest était occupé par des Ibéro-maurisiens. Le Néolithique, époque finale de la préhistoire, a connu l'apparition de l'agriculture, la domestication et ainsi, la sédentarisation. A ces temps, les côtes Sud de la Méditerranée étaient occupées, par les berbères.

Dans l'antiquité, les Phéniciens qui, originaire du moyen orient, ont fondu Carthage en 814 avant J.C. et d'autres comptoirs portuaires le long du littoral méditerranéen. Ils ont établi des relations avec les populations locales, qui sont les ancêtres des populations actuelles berbères. En 149 ans avant J.C, les Phéniciens ont été vaincus par les Romains. De même, les Vandales (429) et les Byzantins (533) pénétraient dans les côtes de l'Afrique du Nord. Mais leurs occupations étaient brèves dans le temps et dans l'espace. Les troupes berbères, sous l'autorité Arabe traversent à la péninsule et la Sicile, qu'ils ont conquis (827-1016). Après la première conquête de l'Espagne, deux principales pénétrations berbères traversent à la Péninsule : les Almoravides (1056-1147) et les Almohades (1121-1269). Les dernières occupations en Algérie au temps du colonialisme, ont été celles des français (Chadli, 2009).

Ce rapide historique, montre que l'Algérie a été le lieu de rencontres de plusieurs cultures qui ont laissé des traces plus au moins profondes dans leur savoir médical qui était essentiellement naturaliste. Les connaissances médicales en Algérie sont d'origine diverse et ancienne. Dans les temps les plus reculés d'Afrique, les berbères ont conservé des traditions herboristes ancestrales et les plantes médicinales ont fait l'objet d'échanges commerciaux entre le Proche-Orient, l'Inde et l'Afrique du Nord depuis l'antiquité. Une importante connaissance de la matière médicale végétale et minérale, utilisée actuellement en médecine traditionnelle algérienne, trouve son origine dans l'héritage médical de la civilisation musulmane, transmise de générations en générations. Le recours aux médecines traditionnelles reste toujours important et les pharmacopées à base de plantes sont donc toujours bien vivantes en Algérie (Cheriti et al., 2005).

II. Etude botanique

II.1. Flore algérienne

De part sa situation géographique, l'Algérie chevauche entre deux empires floraux: l'Holarctis et le Paleotropis. Cette position lui confère une flore très diversifiée par des espèces appartenant à différents éléments géographiques. Sur les 3139 espèces (5402 taxons en comptant les sous espèces, les variétés et les formes) décrites par [Quézel et Santa \(1962, 1963\)](#) dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, ZERAIA (1983) dénombre 289 espèces assez rares, 647 rares, 640 très rares, 35 rarissimes et 168 endémiques ([INRAA, 2006](#)).

II.2. Ordre des Asparagales

La classification des Monocotylédones a fait l'objet de nombreux travaux. Les regroupements taxonomiques ont beaucoup varié, en particulier les Asparagales et les Liliales qui ont toujours été considérés comme un ensemble unique. L'ordre des Asparagales a été introduit par la classification phylogénétique des Angiospermes. Les Asparagales selon [APG IV \(2016\)](#) (Angiosperm Phylogeny Group) regroupe des familles placées encore souvent dans les Liliales et des genres qui ont été élevés au rang de familles : Amaryllidaceae, Asparagaceae, Asteliaceae, Blandfordiaceae, Boryaceae, Doryanthaceae, Hypoxidaceae, Iridaceae, Ixioliriaceae, Lanariaceae, Orchidaceae, Tecophilaeaceae, Asphodelaceae, Xeronemataceae ([APG IV, 2016 ; Spichiger et al., 2004](#))

II.2.1. Famille des Asphodelaceae

La classification de cette famille a longtemps été problématique. Cronquist (1981) a fourni une approche très traditionnelle à la circonscription des familles de Monocotylédones. Il a traité toutes les Monocotylédones en une seule famille (les Liliaceae), et a retenu presque tous les Asphodeloideae chez les Liliaceae. Dahlgren (1985) a divisé ce superordre le plus grand et le plus diversifié de Monocotylédones en cinq ordres. Le plus grand de ces ordres est celui des Asparagales (actuellement composé de 29 familles). Les Asphodelaceae ont été placées dans les Asparagales et divisée en deux sous-familles : Asphodeloideae et Alooideae. La plupart des chercheurs ont trouvé les limites de ces classifications inacceptables à cause de l'utilisation de tant de familles petites ou mal connues et plusieurs autres auteurs ([Smith et Van Wyk, 1998](#)) ont également reconnu les Asphodelaceae.

[Angiosperm Phylogeny Group \(1998\)](#) a déterminé les Asphodelaceae comme une famille d'Asparagales avec de nombreuses petites familles (26 familles) et laissant de nombreuses

plantes horticoles communes hors de la famille. La décision de grouper trois familles autrefois séparées, Asphodelaceae, Hemerocallidaceae et Xanthorrhoeaceae, en une seule famille s'est produite pour la première fois en 2003 en tant qu'option dans la classification APG II. Le nom utilisé pour la famille élargie était alors Xanthorrhoeaceae comprenant les Asphodelaceae (APG II, 2003). Dans APG III (2009), Les Asphodelaceae se substituent aux Xanthorrhoeaceae et font partie des Asparagales, le plus grand ordre des monocotylédones.

Les Asphodelaceae sont dispersées un peu partout dans le monde, et poussent préférentiellement en climat tempéré et tropical (Afrique, bassin méditerranéen, Europe occidentale et central, Madagascar, Asie central, Australie et nouvelle-Zélande) (Klopper et al, 2013).

Les Asphodelaceae peuvent être distinguées des autres groupes monocotylédones par une combinaison de caractères : présence générale d'antraquinones, absence de saponines stéroïdiques, microsporogénèse simultanée, morphologie ovulaire atypique et présence d'un arille (APG III, 2009).

II.2.2. Genre *Asphodelus*

Le genre *Asphodelus* compte 18 espèces et un total de 27 espèces, sous espèces et variétés dans le monde. Il est originaire d'Europe, de la Méditerranée, d'Afrique, du Moyen-Orient et du sous-continent indien, et maintenant naturalisé ailleurs (Nouvelle-Zélande, Australie, Mexique, sud-ouest des états unis, etc). Ce genre atteint sa diversité maximale à l'ouest de la Méditerranée, en particulier dans la péninsule ibérique et dans le Nord-Ouest de l'Afrique et occupe surtout les sols calcaires (Govaerts, 2003 ; Dobignard et Chatelain, 2012).

En Algérie, les espèces rencontrées sont : *Asphodelus acaulis* Desf., *Asphodelus cerasiferus* J. Gay., *Asphodelus microcarpus* Salzm et Viv., *Asphodelus refractus* Boiss, *Asphodelus fistulosus* L., et *Asphodelus tenuifolius* Cav. (Quézel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991).

L'asphodèle est une plante annuelle ou bisannuelle, de très grande taille avec une tige qui peut atteindre facilement une hauteur d'un mètre cinquante. Elle est caractérisée par des feuilles lancéolées ou toutes radicalaires, d'un beau vert brillant, des fleurs en grappes ou panicules. Les pétales sont ornés d'une unique ligne longitudinale et d'une capsule loculicide (Quézel et Santa, 1962).

II.2.3. *Asphodelus tenuifolius* Cav.

Systématique (APG IV., 2016)

<i>Règne :</i>	Plantae
<i>Clade :</i>	Euangiospermes
<i>Clade :</i>	Monocotylédones
<i>Ordre :</i>	Asparagales
<i>Famille :</i>	Asphodelaceae
Sous famille :	Asphodeloideae
<i>Genre :</i>	<i>Asphodelus</i>
<i>Espèce :</i>	<i>A. tenuifolius</i> Cav. (Stevens, 2001).

Asphodelus tenuifolius Cav. (*A. tenuifolius*) se rencontre en Afrique du nord et dans les régions du sud ouest de l'Asie et de l'Europe (Govaerts, 2003). En Algérie, elle pousse dans les dunes, les pâturages arides et les steppes. Elle est commune dans les sahels littoraux oranais, les hauts plateaux et le Sahara. C'est une plante acaule, à racines fasciculées et presque napiformes. Les feuilles sont linéaires, de 20-30 cm, ciliées sur les marges. Les fleurs sont grandes et blanches, tépales à nervures foncées. Capsules portées par un pédoncule allongé. Graines finement ponctuées (Quézel et Santa, 1962).

Nom vernaculaire : Acheub el Ibel, Tazia.

Nom Tamahaq : Izéan.

Synonymes : *Asphodelus tenuifolius* var. *micranthus* Boiss.

Asphodelus tenuifolius f. *micranthus* (Boiss.) Maire (Govaerts, 2003).

II.2.4. Usages traditionnels du genre *Asphodelus*

Les études ethnobotaniques antérieures ont montré que parmi les espèces du genre *Asphodelus* qui existent en Algérie, seules cinq espèces à savoir : *A. microcarpus* Salzm et Viv., *A. fistulosus* L., *A. ramosus* L., *A. tenuifolius* Cav. et *A. refractus* Boiss ont été documentées pour leurs usages traditionnels (tableau 1). Le plus souvent, ces espèces sont utilisées dans les pathologies digestives et dermatologiques en particulier : *A. refractus* Boiss et *A. tenuifolius* Cav. (Ould El Hadj et al., 2003 ; Maiza, 1993 ; Bouallala et al., 2014 ; Kadri et al., 2018 ; Chehma et al., 2008 ; Kefifa et al., 2018 ; Lakhdari et al., 2016). *A. fistulosus* L.

a été signalé comme antidiabétique (Telli, 2016), *A. microcarpus* Salzm et Viv. est également utilisée pour le traitement de l'arthrite, du rhumatisme, de la bronchite et de l'asthme (Cheramat et al., 2015).

Chez les Touareg, les feuilles d'*A. tenuifolius*, qui ont l'aspect d'un semis d'oignons, sont consommées bouillies, en jetant l'eau de cuisson. Les graines appelées Tebhit sont estimées et consommées comme les autres graines en bouillies et en galettes, ou mélangées aux dattes pilées. Un proverbe touareg dit : "COUD IOUNER OUL IZEAN" : "quand je suis rassasié, je ne mangerais pas même un Izean". Au début du vingtième siècle, la disette sévissait à Mertoûtek (dans le sud algérien), les gens mangèrent des tiges florales d'*A. tenuifolius* Cav. en grande quantité (ces tiges sont douces lorsqu'elles sont nouvelles) (Gast, 2000).

Au Maroc, la partie utilisée en médecine traditionnelle est constituée par les racines tubéreuses renflées d'*A. microcarpus* Salzm et Viv. et *A. ramosus* L. L'huile, dans laquelle on a fait cuire cette partie, est utilisée, en instillations auriculaires, dans le traitement des otites. La poudre et la décoction de la drogue sont employées, en applications locales, dans les soins des abcès. A Marrakech, les tubercules servent à faire un onguent contre le vitiligo et les taches blanches cutanées de toute nature. Les graines d'*A. tenuifolius* avec les autres céréales sont consommées sous forme de galettes ou de bouillies, réduites en poudre et mélangées avec du miel ou l'huile d'olive, sont utilisées par voie interne dans le traitement des refroidissements et des hémorroïdes. Les feuilles sont cuisinées avec d'autres légumes ; macérées dans l'huile et appliquées sur divers boutons, elles agiraient comme cicatrisant, Elles servent parfois à préparer la sauce du couscous (Bellakhdar, 1997).

En Tunisie, *A. microcarpus* Salzm et Viv. est utilisé pour soigner les maux de dents, et contre les écoulements d'oreilles en versant dans l'oreille, un peu de liquide obtenu après cuisson de tubercules dans l'huile. La farine obtenue après séchage est mélangée à la farine d'orge et s'emploie en pansement contre les ulcères et les abcès du sein. Les cendres sont utilisées comme diurétique et parfois en collyre contre les taies de la cornée. Les bottes d'*A. fistulosus* L. servent à préparer une sauce appréciée pour le couscous (Le Floc'h, 1983).

Différentes espèces du genre *Asphodelus* ont plusieurs autres utilisations dans divers pays. *A. aestivus* Brot., *A. fistulosus* L., *A. microcarpus* Salzm et Viv., *A. ramosus* L. sont utilisées dans les infections dermatologiques en Chypre, Égypte, Libye, Palestine et Espagne. *A. microcarpus* Salzm et Viv., *A. ramosus* L., et *A. tenuifolius* Cav. sont généralement employées comme anti-inflammatoires, agents spécifiquement pour le traitement du psoriasis,

de l'eczéma et des rhumatismes. *A. aestivus* Brot. et *A. tenuifolius* Cav. sont également utilisées pour le traitement de l'ulcère en Turquie, en Inde et au Pakistan. *A. ramosus* L. et *A. tenuifolius* Cav. ont souvent été signalées comme diurétique chez les habitants de l'Égypte, de l'Inde, du Pakistan, et de la Turquie (Malmir et al., 2018).

Tableau 1 : Usages traditionnels du genre *Asphodelus* en Algérie.

Espèces	Partie utilisée	Mode de préparation	Usages traditionnels	Références
<i>Asphodelus fistulosus</i> L.	Plante entière	/	Diabète	Telli et al., 2016
<i>Asphodelus microcarpus</i> Salzm et Viv.	Tubercules	/	Arthrite, rhumatisme Bronchite, asthme	Chermat et al., 2015
<i>Asphodelus ramosus</i> L.	Plante entière	/	Otites, rhumatismes et douleurs dentaires	Miara et al., 2013
<i>Asphodelus refractus</i> Boiss.	Plante entière	/	Indigestion, constipation, et douleurs du ventre et d'estomac. Blessures et maladies de la peau Stimulante	Lakhdari et al., 2016
<i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.	Feuilles, fruits	Décoction, pommade, poudre interne	Indigestion, constipation, et maux d'estomac Dermatoses	Ould El Hadj et al., 2003
	Parties aériennes	Infusion	Pathologies digestives : constipation. Pédiatrie : anémie, rougeole	Maiza., 2006
	Plante entière	/	Pathologies digestives	Bouallala et al., 2014
	Plante entière	Décoction	Pathologies digestives	Kadri., 2018
	Plante entière	Décoction Poudre et pommade	Fièvres, indigestions et constipation Lésions cutanées	Chehma et al., 2008
	Plante entière Feuilles	/	Aphrodisiaque, constipation, et fièvre Indigestion, douleurs d'estomac.	Kefifa et al., 2018

II.3. Ordre des Apiales

Les Apiales définit avec les Aquifoliales, les Astérales et les Dispacales l'ensemble des Astéridées supérieurs épigynes, à fleurs souvent pseudonthiales, avec des polyacétylènes et sesquiterpènes. Ce sont des plantes ligneuses ou herbacées, à feuilles composées ou profondément découpées, caractérisées par des inflorescences ombelliformes de fleurs isomères, pentamères, dialypétales et dont les ovaires infères sont surmontés par un stylopode. L'ordre des Apiales contient 10 familles dont les Apiaceae, Aralidiaceae, Griselinaceae, Melanophyllaceae, Myodocarpaceae, Pennantiaceae, Pittosporaceae, Mackinlayaceae et Torricelliaceae (Spichiger et al., 2004 ; Simpson, 2006).

II.3.1. Famille des Apiaceae

La famille des Apiaceae est l'une des familles les plus importantes des plantes à fleurs, représentant la très grande majorité de l'ordre des Apiales, elle comprend près de 3780 espèces réparties dans 434 genres. Elle est distribuée dans le monde entier, mais elle est plus commune dans les régions montagneuses tempérées de l'hémisphère nord, particulièrement des régions méditerranéenne et Irano-turanienne, et relativement rare en zone tropicale (Sayed-Ahmad et al., 2017).

Les espèces d'Apiaceae ont en commun : un port herbacé plus ou moins ligneux, feuilles alternes et engainantes, petites fleurs regroupées en ombelles simples ou composées, fruits indéhiscentes et des canaux sécréteurs résinifères dans tous les organes caractérisant l'odeur de la famille (Spichiger et al., 2004). En Algérie, cette famille est très importante, elle est représentée par 55 genres, est mal représentée au Sahara, notamment dans sa partie centrale (Quézel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991).

La famille des Apiaceae fournit un grand nombre de plantes employées dans différents domaines comme l'alimentation, les épices, les liqueurs, la médecine, les produits répulsifs, les produits de beauté, les parfums et l'industrie agro-alimentaire. Plusieurs plantes de cette famille sont utilisées comme remèdes traditionnels pour traiter diverses maladies liées aux systèmes digestifs, endocriniens, reproducteurs et respiratoires. Cette famille est riche en métabolites secondaires qui sont une source potentielle de médicaments comme les saponines, flavonoïdes, coumarines, polyacétylènes et stéroïdes. En outre, plus de 760 composants variés de différentes classes chimiques avec un intérêt pharmaceutique élevé sont détectés dans les huiles essentielles dans cette famille. Différentes études ont déjà démontré des propriétés biologiques anti-tumorales, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, analgésiques, diurétiques,

anti-oxydantes et contre l'obésité, etc, de ces métabolites secondaires isolés à partir des Apiaceae (Sayed-Ahmad et al., 2017).

II.3.2. Genre *Bupleurum*

Le genre *Bupleurum* (Buplèvre) comprend environ 200 espèces, il est répandu dans les régions semi-tropicales de l'hémisphère nord (Europe, Asie et Afrique du nord), et en particulier dans les régions méditerranéennes (Pan, 2006).

En Algérie, ce genre est représenté par quatorze espèces dont cinq sont endémiques (*B. oligactis* Boiss., *B. balanasae* Boiss, *B. atlanticum* Murb., *B. plantagineum* Desf, *B. montanum* Coss) (Quézal et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991).

La plupart des espèces de *Bupleurum* sont des plantes annuelles ou vivaces, arbustives ou arborescentes, avec des ombelles composées, à feuilles entières et glabres, et à fruits ronds, plans ou convexes, diversement ornés (Quézal et Santa, 1963).

II.3.3. *Bupleurum spinosum* Gouan.

Systématique (APG IV., 2016)

<i>Règne :</i>	plantae
<i>Clade :</i>	Euangiospermes
<i>Clade :</i>	Eudicotylédones
<i>Clade :</i>	Astéridées.
<i>Clade :</i>	Astéridées II.
<i>Ordre :</i>	Apiales
<i>Famille :</i>	Apiaceae
<i>Sous-famille :</i>	Apioideae
<i>Tribu :</i>	Bupleureae
<i>Genre :</i>	<i>Bupleurum</i>
<i>Espèce :</i>	<i>B. spinosum</i> Gouan (Stevens, 2001).

Bupleurum spinosum Gouan. (*B. spinosum*) est un buisson en coussinet, à tiges ligneuses, et fortement épineux. Les feuilles sont entières, lancéolées, à 3-5 nervures, longues de 3 à 5 cm. Les ombelles sont terminales et peu florifères. Elle se rencontre en Espagne méridional et au

Maghreb. En Algérie, l'espèce pousse sur les rocailles, dans les moyennes et hautes montagnes. Elle est assez commune dans les hauts plateaux, et l'Atlas saharien mais rare sur les hautes montagnes du Tell. La floraison a lieu de Juin à Juillet (Quézel et Santa, 1962).

Noms vernaculaires : Choubreg, Tafa.

Synonymes : *Bupleurum fruticosens* subsp. *spinosum* (Gouan) O. Bolòs & Vigo

Tenoria spinosa Spreng. (www.theplantlist.org; Dobignard et Chatelain, 2012)

II.3.4. Usages traditionnels du genre *Bupleurum*

Nous n'avons pas recensé d'usage médicinal pour les espèces de *Bupleurum* au nord de l'Afrique. Cependant, Bellakhdar (1997) évoque deux espèces : *Bupleurum canescens* Schousb. et *Bupleurum dumosum* Coss. & Bal. rencontrées dans le Sahara occidental et signale leur toxicité connue chez le dromadaire qui se manifeste par de fortes diarrhées et des désordres nerveux, suivis rapidement de mort dans les cas graves. Sèches, ces plantes perdraient leur toxicité.

Dans la pharmacopée chinoise, les drogues officielles sont représentées par *Bupleurum chinense* D.C. and *B. scorzonerifolium* Willd. Elles sont employées souvent en combinaison avec d'autres drogues en tant qu'agents antihépatotoxiques, antipyrétiques, analgésiques, sédatifs, antidépresseurs, en cas de douleurs menstruelles, de perte d'audition soudaine, et de malaria (Lacaille-Dubois, 2013). Sous le terme de Chaihu (saiko en japonais et de Shiho en coréen), on désigne les racines de plusieurs espèces du genre, fréquemment employées dans les prescriptions de la médecine traditionnelle orientale en Chine, pendant 2000 ans. Chaihu a été enregistré pour la première fois dans Shen Nong's Herbal, qui a été édité il y'a 2000 ans, où Chaihu a été décrit comme meilleure médecine pour le traitement de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation associées à la grippe et au rhume. En 1058 avant J.C., un atlas de Materia Medica, *Bencao Tu-jing*, a été publié, et contient quatre illustrations de Chaihu : Zizhou Chaihu, Danzhou Chaihu, Jiangningfu Chaihu, et Xiangzhou Chaihu (Pan, 2006).

*III. Travaux phytochimiques
antérieurs*

III.1. Travaux phytochimiques antérieurs sur les genres étudiés

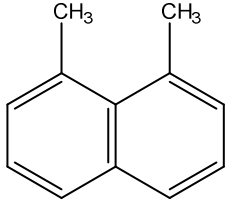
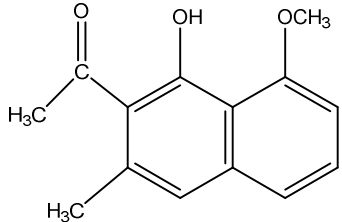
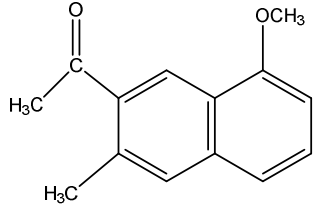
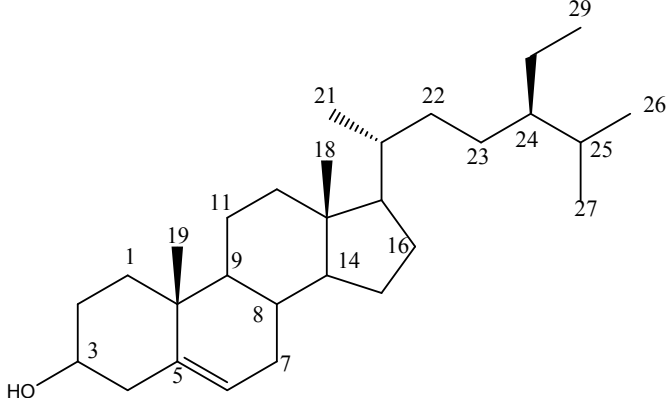
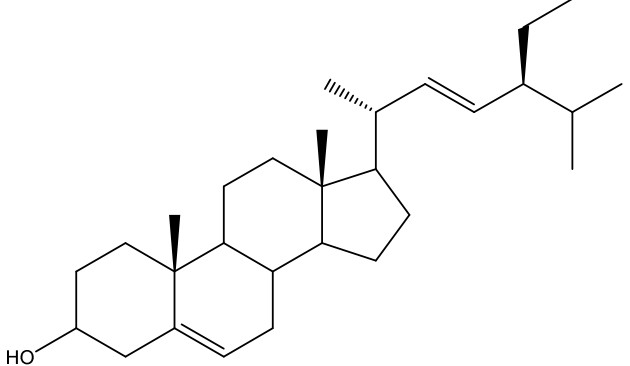
III.1.1. Genre *Asphodelus*

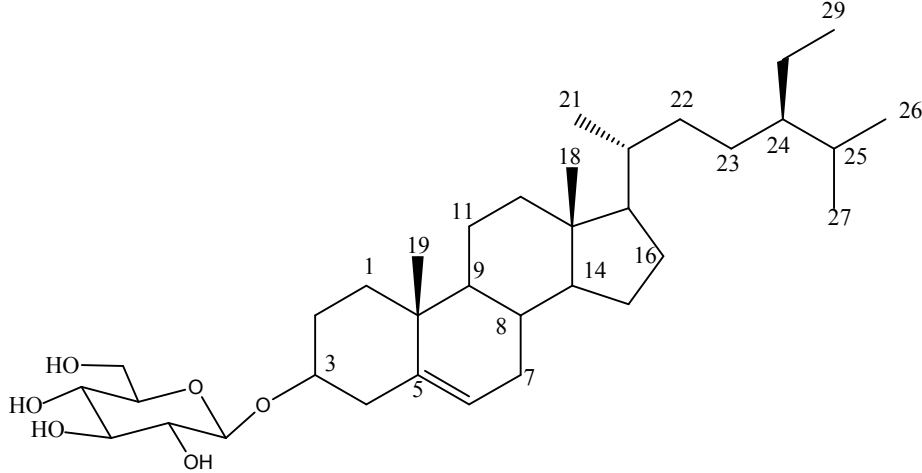
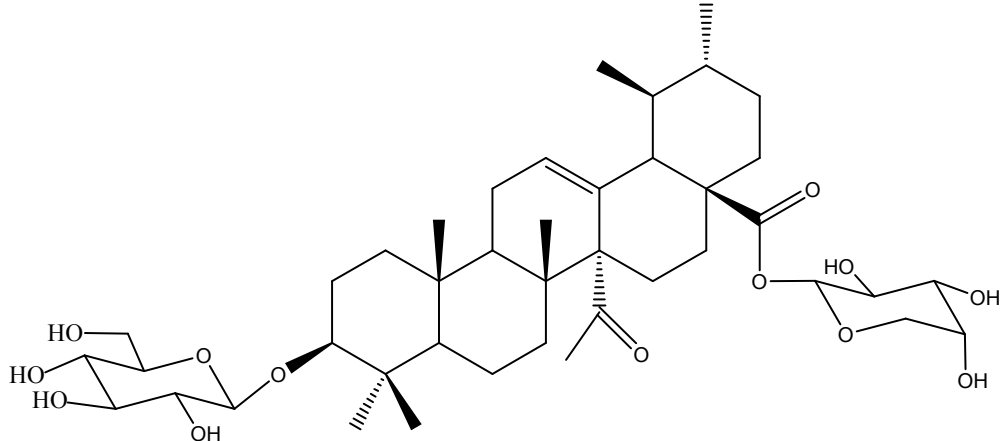
Différentes études phytochimiques ont révélé la présence de différents groupes de composés chimiques à savoir les anthraquinones (sous forme libre ou sous forme de glycosides), les acides phénoliques, les flavonoïdes, les triterpénoïdes dans *A. acaulis* Desf., *A. albus* Mill., *A. aestivus* Brot., *A. cerasiferus* J. Gay., *A. fistulosus* L., *A. microcarpus* Salzm. et Viv., *A. ramosus* L. et *A. tenuifolius* Cav.

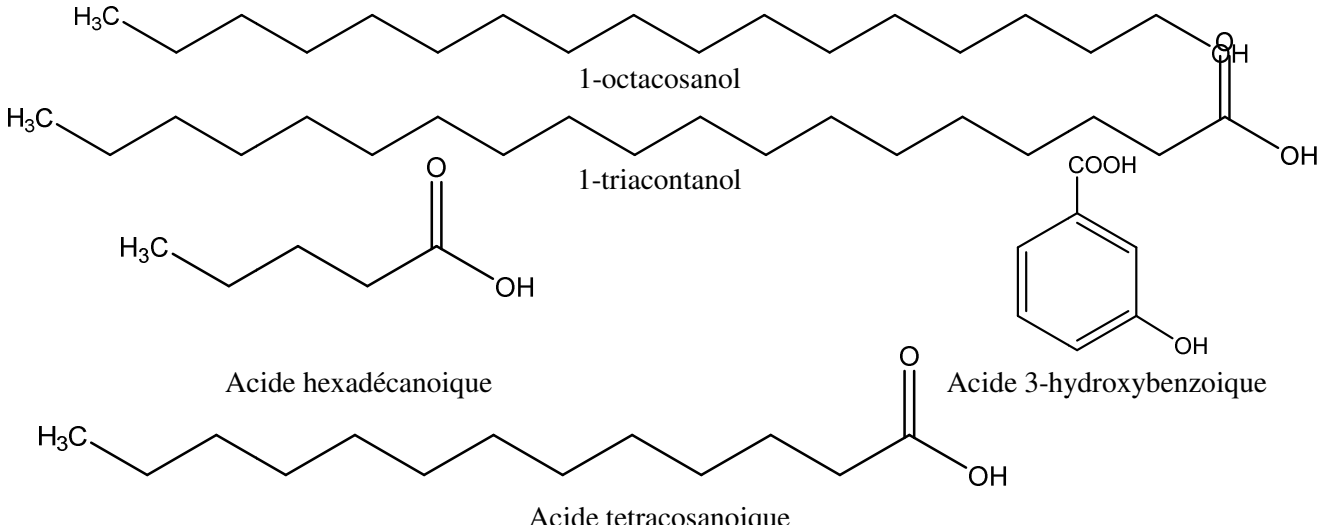
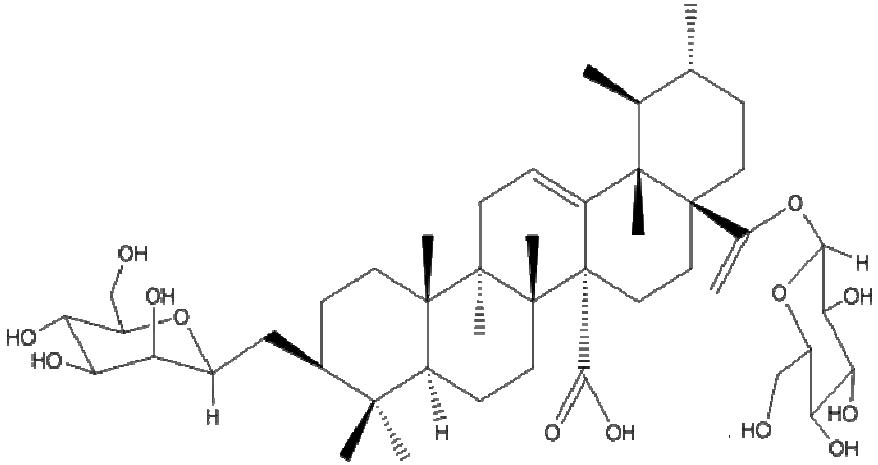
Les racines contiennent principalement des dérivés d'anthraquinones tels que le chrysophanol, et l'aloé-émodin, les triterpénoïdes, et les dérivés du naphthalène. Les parties aériennes contiennent des flavonoïdes tels que la lutéoline, l'isovitexine et l'isoorientine, des acides phénoliques et peu d'anthraquinones. Des acides gras, à savoir, l'acide myristique, palmitique, oléique, linoléique et linoléique ont été retrouvés dans les graines et les racines. Seulement, les huiles essentielles des fleurs de *A. aestivus* Brot., *A. microcarpus* Salzm. et Viv. ont été caractérisés ([Malmir et al., 2018](#)).

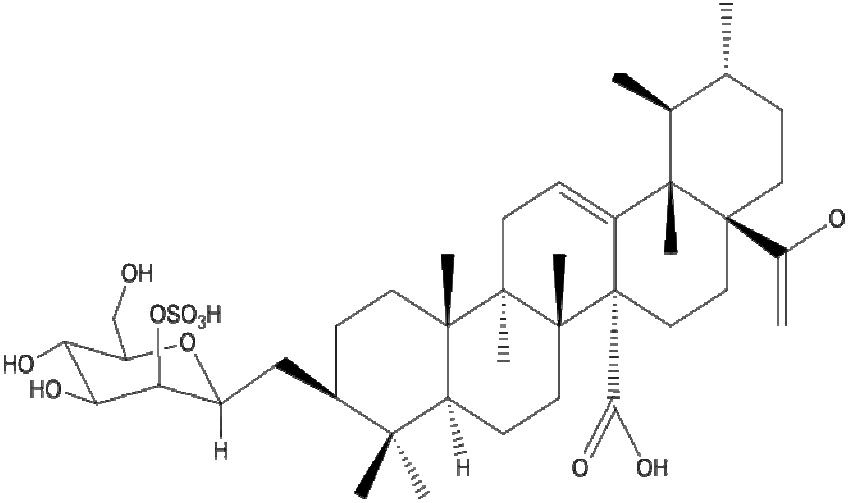
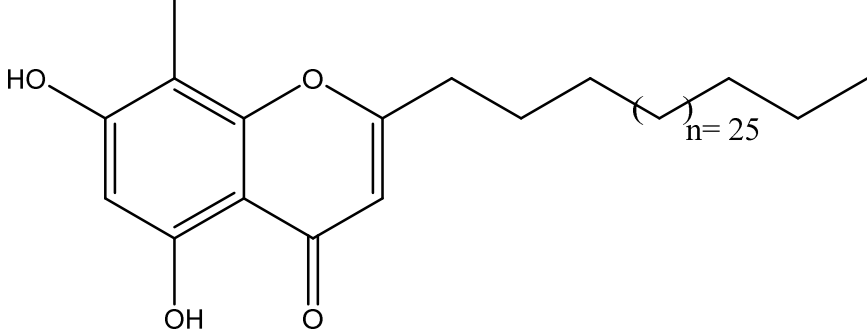
Les tableaux 2 et 3 résument la composition chimique d'*A. tenuifolius* et de quelques espèces du genre *Asphodelus*.

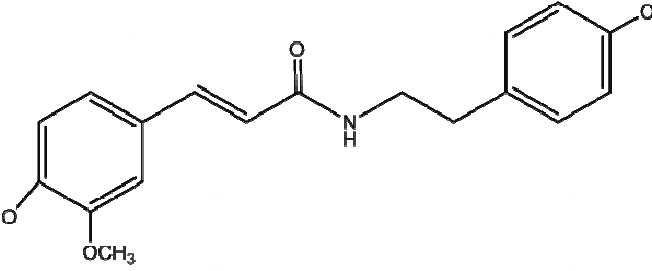
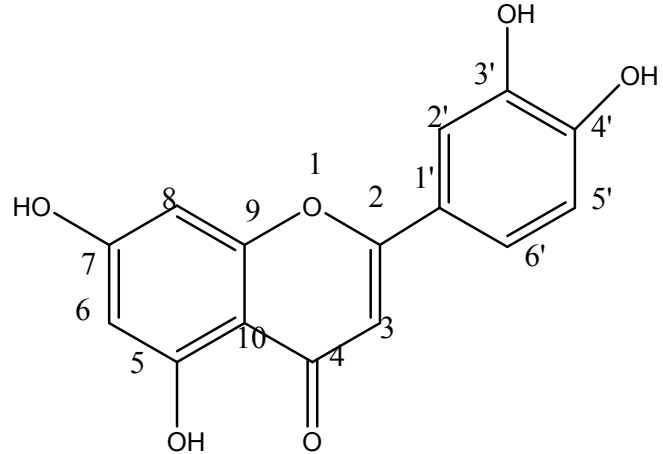
Tableau 2 : Données chimiques sur *Asphodelus tenuifolius* Cav.

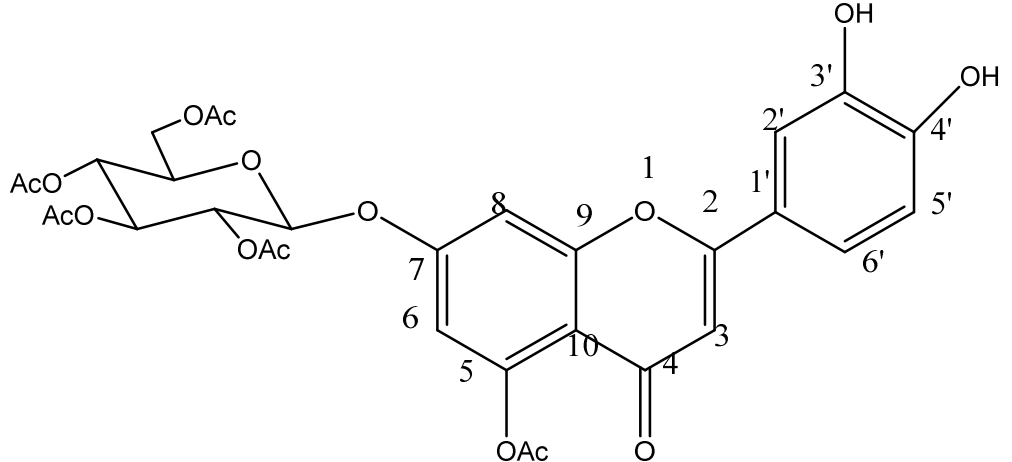
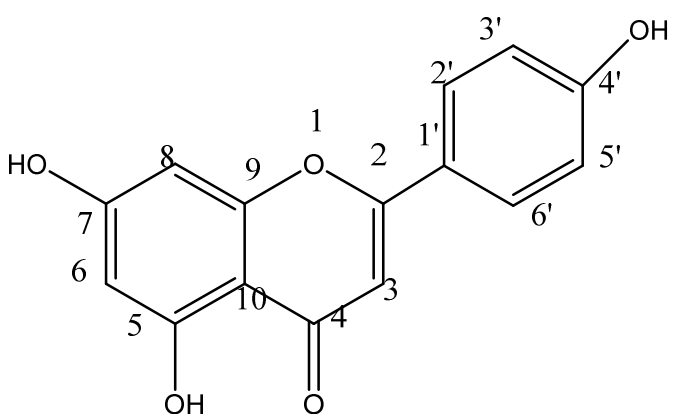
Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
Racines	Dérivés du naphthalène	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p>1,8-diméthylnaphtalène</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>2-acétyl-8-méthoxy-3-méthyl-1-naphtol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>2-acétyl-1,8-diméthoxy-3-méthylnaphtalène</p> </div> </div>	Abdel-Moghib et al., 2002
Plante entière	Phytostérols	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p>β-sitostérol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Stigmastérol</p> </div> </div>	Abdel-Moghib et al., 2002., Safder et al. , 2009b

Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
		 <p data-bbox="987 767 1435 802"><i>β</i>-sitostérol 3-O-<i>β</i>-D-glucopyranoside</p>	
Plante entière	Glycoside triterpénique	 <p data-bbox="1133 1318 1279 1350">Asphorodin</p>	Safder et al., 2009a

Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
Plante entière	Alcools et acides gras	 <p>1-octacosanol</p> <p>1-triacontanol</p> <p>Acide hexadécanoïque</p> <p>Acide tétracosanoïque</p> <p>Acide 3-hydroxybenzoïque</p>	Safder et al. , 2009b
Plante entière	Glycoside triterpénique	 <p>Asphorin A</p>	Safder et al., 2012

Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
		 <p>Asphorin B</p>	
	Chromone	 <p>2-hentriacontyl-5,7-dihydroxy-8-méthyl-4H-1-benzopyran-4-one</p>	

Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
Parties aériennes	Phénylpropanoïde	 <p>Trans-N-feruloyltyramine</p>	Faidi et al., 2014
	Flavonoïdes	 <p>Lutéoline</p>	

Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
		 <p data-bbox="918 766 1500 805">Lutéoline-7-O-β-D-glycopyranoside tétra-acétate</p>  <p data-bbox="1142 1244 1276 1284">Apigénine</p>	

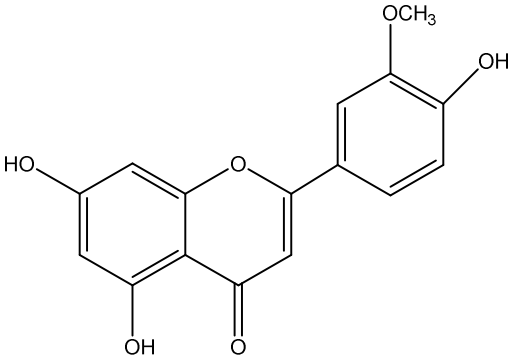
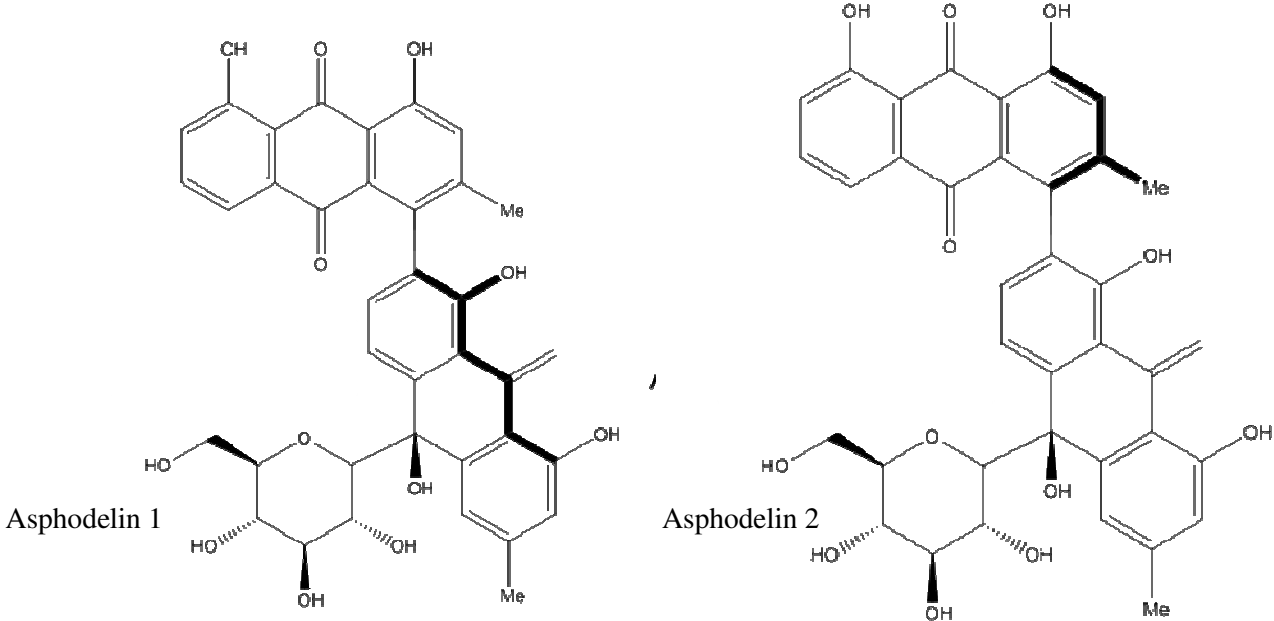
Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
		 <p style="text-align: center;">Chrysoeriol</p>	
Parties aériennes	Glucopyrano-sylbianthrones	 <p style="text-align: center;">Asphodelin 1 Asphodelin 2</p>	Khalfaoui et al., 2018

Tableau 3 : Données chimiques sur quelques espèces du genre *Asphodelus*.

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références	
<i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.	Racines	Dérivés du naphthalène	1,8-diméthyl-naphtalène 2-acetyl-8-méthoxy-3-méthyl-1-naphtol 2-acetyl-1,8-diméthoxy-3-méthyl-naphtalène	Abdel-Moghib et al., 2002	
		Phytostérols	β -sitostérol Stigmastérol		
	Plante entière	Glycoside triterpénique	Asphorodin	Safder et al., 2009a	
	Plant entière	Phytostérols	β -sitostérol β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside	Safder et al. , 2009b	
		Alcools et acides gras	1-octacosanol 1-triacontanol Acide hexadécanoïque Acide tetracosanoïque Acide 3-hydroxybenzoïque		
	Plante entière	Glycoside triterpénique	Asphorin A Asphorin B	Safder et al., 2012	
			Chromone		2-hentriacontyl-5,7-dihydroxy-8-méthyl-4H-1-benzopyran-4-one
	Parties aériennes	Phénylpropanoïde	Trans-N-feruloyltyramine	Faidi et al., 2014	
		Flavonoïdes	Lutéoline Lutéoline-7-O- β -D-glycopyranoside Apigénine Chrysoériol		
			Glucopyranosylbianthrones		Asphodelin 1 Asphodelin 2
<i>Asphodelus microcarpus</i> Salzm. et Viv.	Graines	Phytostérols	β -sitostérol, campestérol, stigmastérol	Fell et al., 1968	
		Triterpènes			β -amyrin
		Acides gras			Acide myristique Acide palmitique Acide stéarique Acide oléique

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
			Acide linoléique	
		Carbohydrates	Sucrose Raffinose Melibiose Stachyose	
	Tubercules	Carbohydrates	Raffinose Sucrose Glucose Fructose	Rizk et al., 1970
		Acides gras	Acide palmitique Acide stéarique Acide linoléique Acide linoléique Acide oléique Acide arachidique Acide béhénique Acide lignocérique Acide myristique	
		Phytostérols	β -sitosterol- β -D-glucoside, fucosterol	
		Mucilages	Composé de glucose, galactose et d'arabinose	
	Tubercules	Phytostérols	β -sitosterol- β -D-glucoside	
	Tubercules	Anthraquinones	1,8-dihydroxyanthraquinone 5,5' bichrysophanol Aloe-émodin Chrysophanol glycoside	Rizk et al., 1972
	Tubercules	Phytostérols	β -sitostérol- β -D-glucoside	Hammouda et al., 1972
	Tubercules	Anthraquinones	1',8,8'-tetrahydroxy-3,3'-dimethyl-2,7'-bianthraquinoyl (microcarpin) 1,1',8,8'-tetra-hydroxy-3,3'-dimethyl-4,7'-bianthraquinoyl (Asphodelin)	González et al., 1973
	Feuilles	Anthraquinones	1,8-dihydroxyanthraquinone Dianhydridorugulosin	Hammouda et al., 1974

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
			Aloe-emodin Chrysophanol	
	Graines	Anthraquinones	Aloe-emodin Chrysophanol	
	Racines		1,8-dihydroxyanthraquinone Dianhydrotugulosin, Aloe-emodin Chrysophanol	
	Racines	Aryl coumarine-glycosides	Asphodelin A 4'-O- β -D-glucoside Asphodelin A	El-Seed, 2007
	Fleurs	Terpénoïdes	Huile essentielle à Germacrene D (68.3%), Germacrene B (3.9 %), a-elemene (3.8 %) et Caryophyllene (3.3 %)	Zellagui et al., 2013
	Tubercules	Anthraquinones	Chrysophanol 8-methoxychrysophanol Emodin 10-(chrysophanol-7'-yl)-10-hydroxychrysophanol-9-anthrone Aloesaponol-III-8-methyl ether Ramosin Aestivin	Ghoneim et al., 2013
		Dérivés du naphthalène	Acide 1,6-diméthoxy-3-méthyl-2-naphthoïque 2-acétyl-1,8-diméthoxy-3-méthyl-naphthalène	
	Fleurs	Terpénoïdes	Germacrène D (78.3%), Germacrène B (3.9%), α -Elemène (3.8%), et Caryophyllène (3.3%)	Amar et al., 2013
	Parties aériennes	Anthraquinones	Asphodelin-10'-oxanthrone-(10'R)- β -D-xylopyranoside (asphodoside A) Asphodelin-10'-oxanthrone-(10'S)- β -D-xylopyranoside (asphodoside B) Asphodelin-10'-oxanthrone-(10S')- β -L-arabinopyranoside (asphodoside C) Asphodelin-10'-oxanthrone-(10R')- β -L-arabinopyranoside (asphodoside D) Chrysalodin-10'-oxanthrone-(10'S)- β -D-glucopyranoside (asphodoside E)	Ghoneim et al., 2014a

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
	Racines	Anthraquinones	Méthyl-1,4,5-trihydroxy-7-méthyl-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracène-2-carboxylate 6-méthoxychrysophanol	Ghoneim et al., 2014b
		Derives benzéniques	(1R)3,10-diméthoxy-5-méthyl-1H-1,4-epoxybenzo[h]isochromène 3, 4-dihydroxy-méthyl benzoate acide 3, 4-dihydroxybenzoïque	
	Fleurs	Acides phénoliques	5- O-caffeoylquinic acid 3- O-caffeoylquinic acid	Di Petrillo et al., 2016
		Flavonoïdes	Lutéolin-6-C-glucoside Lutéolin-O-héxoside Lutéolin-7-O-glucoside Lutéolin-O-acétylglucoside Lutéolin-O-déoxyhésosylhéxoside Méthyl-lutéoline Naringénine Apigénine	
		Feuilles	Acide gras Anthraquinones	
	<i>Asphodeline luteus</i> L.	Feuilles	Anthraquinones	Aloe-émodin
<i>Asphodelus acaulis</i> Desf.	Feuilles	Flavonoïdes	Lutéoline Apigénine	Williams et al., 1975
	Racines	Anthraquinones	Chrysophanol Asphodéline 10,7'-bichrysophanol	Van Wyk et al., 1995
<i>Asphodelus albus</i> Mills.	Feuilles	Flavonoïdes	Lutéoline	Williams et al., 1975
		Anthraquinones	Aloe-émodin Chrysophanol	
	Racines	Anthraquinones	Chrysophanol Asphodéline	Van Wyk et al., 1995

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
			10, 7'-bichrysophanol	
		Acide gras	Acide myristique, acide palmitique, acide stéarique, acide oléique, acide linoléique, acide linoléique, acide arachidique, acide béhénique, acide lignocérique,	Abdel-Gawad et al., 1976
		Phytostérols	β -sitostérol Campestérol Stigmastérol Fucostérol	
		Triterpène	β -amyrine	
<i>Asphodelus albus</i> var. <i>delphinensis</i>	Tubercules	Anthraquinones	Asphodéline Microcarpine Aloe-émodin Chrysophanole	
<i>Asphodelus cerasiferus</i> J. Gay.	Feuilles	Anthraquinones	Aloe-émodin	Williams et al., 1975
		Flavonoïdes	Isoorientine Lutéolin Lutéolin 7-glucoside	
	Tubercules	Anthraquinones	Asphodeline Microcarpine Aloe-émodin Chrysophanole	Abdel-Gawad et al., 1976
<i>Asphodelus delphinensis</i> Gren. et Godr.	Feuilles	Flavonoïdes	Isoorientine Lutéoline Lutéolin 7-glucoside	Raynaud et al., 1974
<i>Asphodelus fistulosus</i> L.	Graines	Acides gras	Acide myristique Acide palmitique Acide stéarique Acide oléique Acide linoléique	Khan et al., 1961
		Carbohydrates	Sucrose, stachyose, raffinose	Fell et al., 1968
		Acides gras	Acide myristique Acide palmitique	

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
			Acide stéarique Acide oléique Acide linoléique	
		Phytostérols	β -sitostérol, campestérol, stigmastérol β -amyrin	
	Graines	Anthraquinone	Dianhydrorugulosin Aloe-émodin Chrysophanol 1,8 hydroxy-dianthraquinone	Hammouda et al., 1974
	Feuilles	Anthraquinone	Dianhydrorugulosin Aloe-émodin Chrysophanol 1,8 hydroxy-dianthraquinone	Hammouda et al., 1974
	Racines	Anthraquinone	Chrysophanol Asphodéline 10,7'-bichrysophanol	Van Wyk et al., 1995
	Parties aériennes fleuries	Anthraquinones	Asphodéline Aloe-saponarin II Aloe-émodin Asphodelin 10'-anthrone Désoxyerythrolaccin Chrysophanol	Abd El-Fattah et al, 1997
		Flavonoïdes	Lutéoline Chrysoériol	
<i>Asphodelus ramosus</i> L.	Tubercules	Anthraquinones	Bi-anthrone C-glycoside : (-) - 10'-C-[β -D-Glucopyranosyl] -1, 1', 8, 8', 10, hexahydroxy-3,3'- diméthyl-10,7'-bianthracène-9,9'-dione. (Ramosin)	Adinolfi et al., 1989
	Tubercules	Anthraquinones	(-) - 10'-C-[β -D-xylopyranosyl] (-) - 10'-C-[β -D-glucopyranosyl-(1-4)- β -D-glucopyranosyl]-1,1' ,8,8',10,10'-hexahydroxy-3,3'-diméthyl-10,7'-bianthracène-9,9'-dione 10'-di-oxy-10-épi-ramosin.	Lanzetta et al., 1990
	Tubercules	Anthraquinones	Anthraquinone-Anthrone-C-Glycosides	Adinolfi et al.,

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
			7'-(Chrysophanol-4-yl)-chrysophanol-10'anthrone10'-C- α -rhamnopyranosyl 7'-(Chrysophanol-4-yl)-chrysophanol-10'anthrone10'-C- β -xylopyranosyl 7'-(Chrysophanol-4-yl)-chrysophanol-10'anthrone10'-C- β -antiaropyranosyl 7'-(Chrysophanol-4-yl)-chrysophanol-10'anthrone10'-C- α -arabinopyranosyl 7'-(Chrysophanol-4-yl)-chrysophanol-10'anthrone10'-C- β -quinovoopyranosyl	1991
	Feuilles	Flavonoïdes	Lutéoline 7-O-glucosyl lutéoline 7-O-glucosyl apigénine Isoorientine Isoswertiajaponine Isocytiside	Reynaud et al., 1997
	Fleurs	Acides phénols	Acide cafféique Acide chlorogénique Acide p-hydroxy-benzoïque	Chimona et al., 2013
	Plante entière	Flavonoïde	Lutéoline	Adawi., 2017
		Acides phénols	Acide gallique, acide chlorogénique, acide vanillique, acide caféique	
<i>Asphodelus mauritii</i> Sennen.	Feuilles	Flavonoïde	Lutéoline	Williams et al., 1975
		Antraquinone	Aloe-émodin Chrysophanol	
<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Feuilles fraîches	Antraquinones	Aloe-émodin Aloe-émodin acétate Chyrosphanol 1-O-gentiobioside	Calis et al., 2006
		Acides aminés	Tryptophan Phenyl-alanine	
		Nucléoside	Adénosine	

Espèce	Organes étudiés	Classe	Molécules identifiées	Références
		Flavonoïdes	Isovitexine Isoorientine Isoorientin 4'-O- β -glucopyranoside 6"-O-(malonyl)-isoorientine 6"-O-[(S)-3-hydroxy-3-methylglutaroyl]-isoorientine	
		Acides quiniques	Acide chlorogénique	
	Fleurs	n-alkenes	Huile essentielle (acide hexa-décanoïque 35.6%, pentacosane 17.4%, tricosane 13.4%, heptacosane 8.4%, heincosane 4.5 %, phytol 4.5%, tétracosane 3%, hexacosane 2%, hexahydrofarnesyl acétone 1.7 %, acide tétradécanoïque 1.4 %, docosane 1.3 %, nonadécane 1%)	Polatoglu et al, 2016
	Graines	Acides gras	Acide butyrique Acide nervoïque	Fafal et al., 2016

III.1.2. Genre *Bupleurum*

Il existe plus de 150 espèces dans le genre *Bupleurum*, dont près du quart ont été soumis à des investigations phytochimiques. Les principaux constituants du genre sont les saikosaponines. De plus, la présence d'huiles essentielles, de lignanes, de flavonoïdes, de coumarines des polysaccharides, des polyacétylènes, des phytostérols et des phénylpropanoïdes ont également été signalés (Pan, 2006).

III.2. Les saponines

III.2.1. Généralités sur les saponines

Les saponines (ou saponosides) sont généralement connues comme des composés de haut poids moléculaire, non-volatils, tensio-actifs, qui sont principalement distribués dans le règne végétal (Vincken et al., 2007). Leur définition classique était basée sur les caractéristiques physiques et physiologiques suivantes : 1) Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives : agités dans leur solution aqueuse, ils forment une mousse abondante et persistante ; 2) Ils modifient considérablement la tension superficielle du solvant dans le quel ils se trouvent ; 3) Ils ont un pouvoir hémolytique puissant, souvent à des concentrations extrêmement faibles ; 4) Ils ont un goût amer et sont très toxiques pour les animaux à sang froid. Bien que ces propriétés ne soient pas communes à toutes les saponines, elles ont été utilisées pour caractériser cette classe de produits naturels par la plupart des auteurs.

Actuellement, en raison des nombreuses exceptions qui existent, les saponines sont définies sur la base de leur structure moléculaire (Bruneton, 1999, 2016 ; Hostettmann et Marston, 1995 ; Vincken et al., 2007). Les saponines sont des molécules structurellement différentes et sont chimiquement définies comme étant des molécules glycosidiques stéroïdiques et triterpéniques. Les saponines se composent d'aglycones non polaires appelées aussi génines (ou sapogénines) couplées à un ou plusieurs monosaccharides (Bruneton, 1999, 2016). Cette combinaison d'éléments structurels polaires et non polaires dans leurs molécules explique leur comportement de type savon, à la fois lipophile (la partie aglycone ou génine) et hydrophile (la partie osidique) (caractère amphiphile), dans les solutions aqueuses (Vincken et al., 2007).

C'est sur la tensio-activité des saponines qu'est fondée l'utilisation multiséculaires de certaines plantes qui en renferment et qui ont été utilisées comme détergent ménager d'usage

courant, et ce fait se reflète dans leurs noms communs : soapwort ou saponaire (*Saponaria officinalis* L.), Soaproot (*Chlorogalum pomeridianum* (DC.) Kunth), soapbark (*Quillaja saponaria* Molina), Soapberry (*Sapindus saponaria* L.), soapnut (*Sapindus mukurossi* L.). En effet, le nom 'saponine' vient du mot latin *sapo* (savon) (Bruneton, 1999, 2016; Hostettmann et Marston, 1995).

Les saponines peuvent être classées selon la nature de leur génine en deux grands groupes : les saponines à génine stéroïdique appelées couramment les glycosides stéroïdiques et les saponines à génine triterpénique appelées aussi les glycosides triterpéniques. Hostettmann et Marston (1995) classent aussi les hétérosides d'amines stéroïdiques parmi les saponines, qui sont considérés par d'autres auteurs comme étant des alcaloïdes.

III.2.2. Structure chimique des saponines

Structure des génines

Les génines appartiennent à deux types structuraux : les stéroïdes et les triterpènes.

- Génines stéroïdiques

Les génines stéroïdiques, en C₂₇, sont dérivées du noyau spirostane, appelé ainsi compte tenu de la nature spiro du carbone C-22 et comprenant généralement six cycles (Bruneton, 1999, 2016). Les cycles A, B, C, et D représentent le noyau stéroïdique (cyclopentanoperhydrophénanthrène). La chaîne latérale, fixée en C-17 comprend deux noyaux hétérocycliques, l'un pentagonal (furanique), l'autre hexagonal (pyranique) (Denoël, 1958). Ces deux cycles sont la conséquence d'une cétylation intramoléculaire qui intervient après l'oxydation en C-16, C-22 et C-26 d'un précurseur cholestanique (Bruneton, 1999, 2016). Dans certains cas, quand la plante est fraîche, l'hydroxyle en C-26 est engagé dans une liaison glycosidique, la structure devient ainsi pentacyclique, on parle dans ce cas, de furostane. Les hétérosides spirostaniques sont principalement distribués dans les bulbes, racines, et graines (Bruneton, 1999, 2016).

Les variations sont limitées :

- Si le squelette hexacyclique comporte de nombreux carbones asymétriques, seule la configuration du carbone C-25 peut varier, ce qui détermine l'existence de deux séries : néosapogénine (25-S, le méthyle est axial) ou isosapogénine (25-R, le méthyle est équatorial).

- La fusion des cycles B/C et C/D est toujours *trans*, celle des cycles D et E est toujours *cis*.
- La configuration des carbones C-20 et C-22, respectivement S et R, est également constante chez les sapogénines naturelles (Bruneton, 1999, 2016).
- La double liaison en 5-6 est parfois conservée (exemple : diosgénine) mais elle peut être réduite, ce qui induit l'existence de dérivés à cycles A/B fusionnés en *trans* (H-5 α) ou en *cis* (H-5 β).
- Dans tous les cas, ces sapogénines possèdent une fonction alcool secondaire en 3, susceptible de former une liaison héli-acétalique avec un ose ou un oside, mais l'oxydation peut aussi concerner d'autres carbones : possibilité d'hydroxylation en C-1, C-2, C-5, C-6 et, plus rarement, en C-7 ou C-24 chez les Liliaceae, en C-2 et/ou en C-15 chez les Scrophulariaceae, ou encore en C-12 dans le cas des Agavaceae chez lesquelles cette oxydation se traduit le plus souvent par l'existence d'un carbonyle (Bruneton, 1999, 2016).
- Les groupements méthyles en C-18 et C-19 ont la configuration *Trans* et le groupement méthyle en C-21 a la configuration *Cis* (Hostettmann et Marston, 1995).

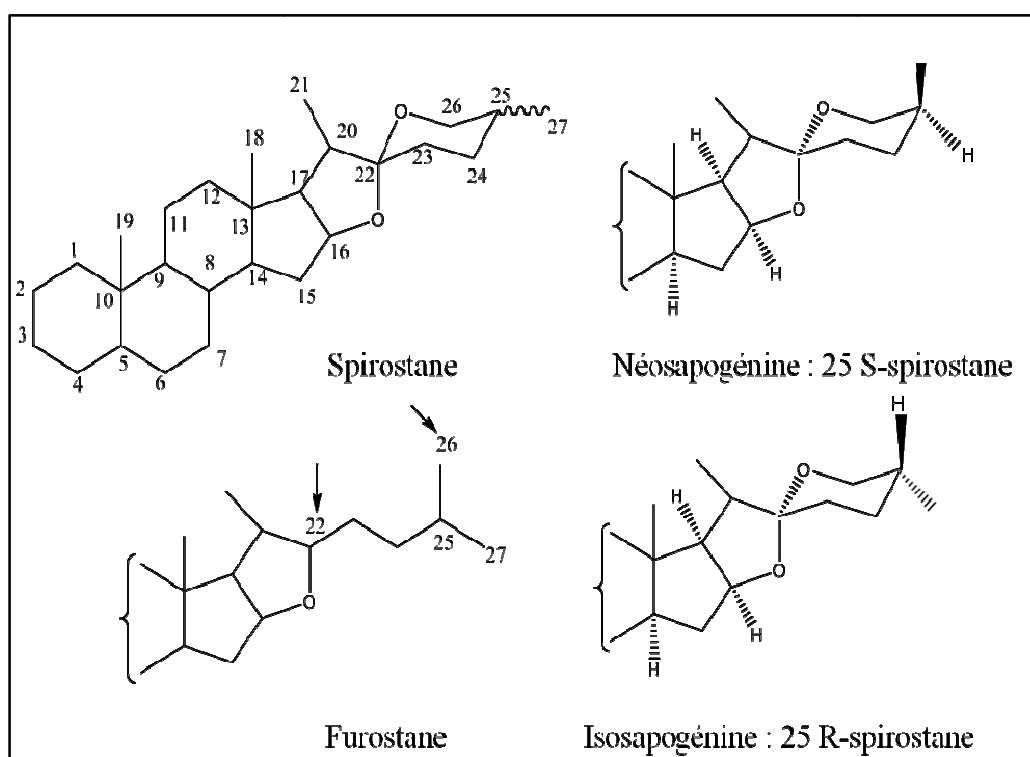


Figure 1 : Squelette et configuration des génines stéroïdiques des saponines (Bruneton, 1999, 2016)

- Génines triterpéniques

Les sapogénines triterpénoïdes sont issues de la cyclisation du (3S)-2,3-époxy-2,3-dihydrosqualène (Bruneton, 1999, 2016). Cette cyclisation conduit à différents types de sapogénines triterpéniques et qui sont :

- Les sapogénines triterpéniques tétracycliques, dérivées du noyau dammarane, qui existent à l'état d'hétérosides dans certaines plantes comme le Ginseng et les Cucurbitaceae. Le composé tétracyclique de type dammarane n'est qu'un intermédiaire qui évolue vers des squelettes pentacycliques : oléananes, ursanes et lupanes (Bruneton, 1999, 2016).
- Les sapogénines triterpéniques pentacycliques, dérivées des noyaux oléanane (on dit aussi dérivés de la β -amyrine), des noyaux ursane (on dit aussi dérivés de l' α -amyrine) et des noyaux lupane. Plus de 50 % des saponines connues se rattachent à l'oléanane, en particulier à l'acide oléanolique et à l'hédéragénine (Bruneton, 1999, 2016).

Les éléments structuraux les plus importants qui caractérisent cette classe sont :

- Une insaturation en C-12 (13) (Bruneton, 1999, 2016).
- L'oxydation fréquente des carbones des méthyles en C-23 et C-28, mais aussi en C-30 (hydroxyméthyle, aldéhyde, ou carboxyle) (Bruneton, 1999, 2016).
- L'oxydation d'un plus ou moins grand nombre de carbones cycliques : C-2, C-7, C-11, C-15, C-16, C-21, C19, C-22. Les hydroxyles obtenus peuvent être oxydés en cétones (surtout au niveau du C-11) et la polyfonctionnalisation peut entraîner, par éthérisation interne ou lactonisation, la formation de cycles supplémentaires. C'est le cas des 13- β , 28-oxydes, souvent isolés sous la forme artefactuelle d'un 12-én-28-ol (Bruneton, 1999, 2016, Hostettmann et Marston, 1995).
- Il peut arriver que la génine soit partiellement estérifiée, généralement par des acides aliphatiques de faible masse moléculaire (aescine de la graine du marronnier d'Inde). Parfois, la génine dérive du lanostane du cycloartane (Passiflora, Abrus) ou d'un nortriterpène (Bruneton, 1999, 2016).

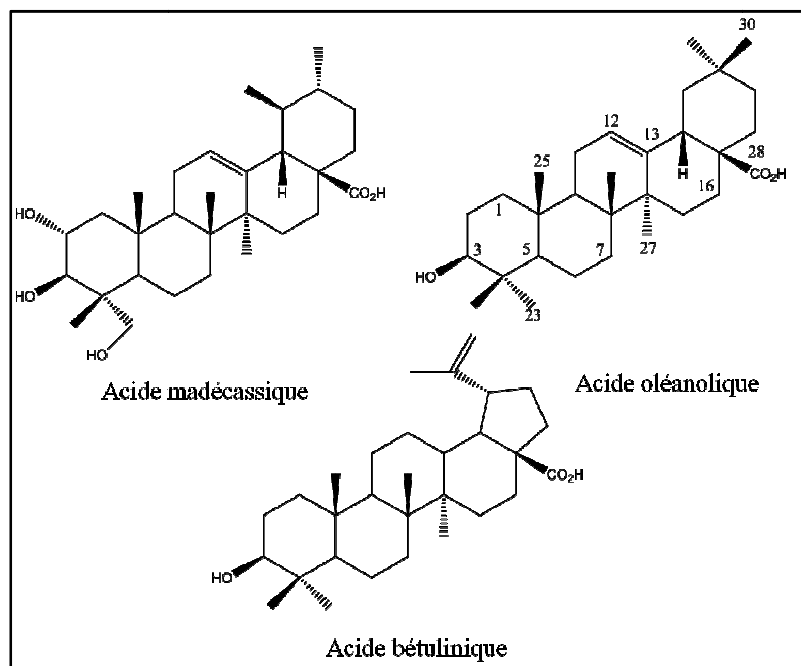


Figure 2 : Exemple de génines triterpéniques (Bruneton, 1999, 2016)

Structure des oses

Ils sont de nature très diverse : oses banals : D-glucose, D-Galactose, L-arabinose, L-rhamnose, D-Xylose, D-fucose et (ou) acides uroniques (glycuronique ou galacturonique). Mais, généralement, la partie sucrée de l'hétéroside est constituée par un ou deux oligosides, linéaires ou ramifiés (ou par un ose et un oligoside). Les oses et oligosides peuvent être liés à la génine par une liaison de type éther ou par une liaison de type ester. L'éthérification (c'est-à-dire formation de la liaison osidique) implique, classiquement, la fonction réductrice de l'oligoside et l'hydroxyle secondaire normalement présent en position C-3, aussi bien chez les stéroïdes que chez les triterpénoïdes : on parle alors de monodesmoside. Fréquemment la molécule comporte, en plus de l'ose ou de l'oligoside fixé en C-3, une deuxième chaîne osidique liée à la génine par une liaison ester avec le carboxyle en C-28 des génines triterpéniques : on parle alors de bidesmoside. Dans le cas des saponines à génine stéroïdique, la deuxième chaîne osidique, quand elle existe, éthérifie l'hydroxyle porté par le carbone C-26 (hétéroside de furostanols).

Dans quelques cas, les oses et oligosides liés à la génine sont acylés par de petits acides aliphatiques (C2 à C6) ou par des acides cinnamiques (Bruneton, 1999, 2016).

III.2.3. Biogenèse

La biosynthèse des saponines se déroule par la voie des isoprénoïdes et il existe une parenté étroite entre les saponines stéroïdiques et les saponines triterpéniques ; ces deux types structuraux proviennent, en effet, d'une même origine biogénétique : le squalène. (Denoël, 1958). D'abord, trois des unités d'isoprène (molécule contenant 5 atomes de Carbones) sont liés les uns aux autres de la manière « tête-à-queue », aboutissant à une molécule à 15 atomes de carbones, il s'agit du pyrophosphate de farnésyle (FPP). Le squalène, construit de six unités isoprènes (C30), provient de la dimérisation « tête à tête » du pyrophosphate de farnésyle en présence de NADPH et de la squalène synthase (Guignard, 2000). Le squalène est oxydé, par une monooxygénase (Guignard, 2000), en squalène 2,3 époxyde (oxydosqualène), qui va subir une ouverture du cycle époxyde, ce qui crée un carbocation, qui peut subir plusieurs types de réactions de cyclisation (Hostettmann et Marston, 1995). La cyclisation de l'époxysqualène correspond à un carrefour métabolique et oriente la synthèse soit vers les phytostérols et leurs dérivés stéroïdiques, soit vers les triterpènes. Tandis que les vrais triterpènes ont 30 atomes de carbone, les stéroïdes n'ont que 27 carbones par le clivage oxydatif de trois groupes méthyles d'un intermédiaire à C-30 (Guignard, 2000).

III.2.4. Distribution

Les saponines sont extrêmement répandues dans le règne végétal. Maintenant, on sait que plus de 90 familles contiennent des saponines (Hostettmann et Marston, 1995). Ils se retrouvent dans une grande variété d'aliments dont Asperges, haricots, fèves, petits pois, lentilles, pois chiches, épinards, ail, pommes de terre, betteraves à sucre, poivrons verts, tomates, oignons, avoine, thé. La 3 montre l'arbre phylogénétique des différentes plantes à partir desquelles les saponines ont été isolées (Vincken et al., 2007).

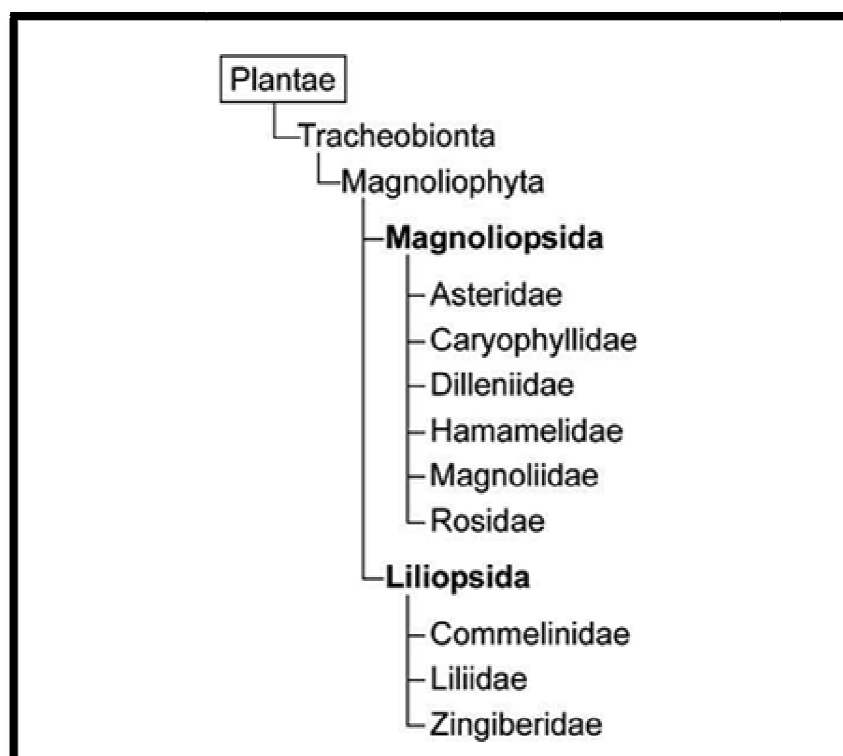


Figure 3 : Arbre phylogénétique montrant les sous-classes de plantes à partir desquelles les saponines ont été isolées et caractérisées (Vincken et al., 2007)

Les saponines ont été isolées de différentes parties des plantes, y compris les racines, les tiges, l'écorce, les feuilles, les graines et les fruits. Leur répartition entre ces organes varie considérablement. Nous n'avons pas observé des squelettes spécifiques de saponines qui sont associés à des parties particulières d'une plante ; Les saponines du même squelette peuvent être obtenues à partir de différentes parties de la plante (Vincken et al., 2007).

Le fait que les saponines sont localisées dans des organites dont l'activité métabolique est élevée (chloroplastes, mitochondries) implique qu'ils ne sont pas simplement des matériaux de déchets, mais ils peuvent être des substances importantes dans la régularisation du métabolisme et le développement d'un organisme c'est-à-dire qu'ils peuvent être des substances physiologiquement significatives (Hostettmann et Marston, 1995).

Le matériel végétal contient souvent des groupes de saponines en quantités considérables. Ainsi, la racine de *Primula* contient environ 5 – 10 % de saponines, la racine de réglisse entre 2 et 12% de glycyrrhizine, l'écorce de *Quillaia* jusqu'à 13% d'aescine. En d'autres termes, la concentration de saponines dans les plantes est élevée par rapport à d'autres métabolites secondaires (Hostettmann et Marston, 1995).

La teneur en saponines dépend de plusieurs facteurs tels que le cultivar, l'âge, l'état physiologique et la localisation géographique de la plante (Hostettmann et Marston, 1995).

Saponines triterpéniques

Parmi les Ptéridophytes, il existe plusieurs espèces contenant des saponines triterpéniques, mais les gymnospermes sont pratiquement exemptes de ces composés. Les angiospermes sont très riches en saponines. Elles sont retrouvés principalement chez les Dicotylédones, dans la famille des Fabaceae, Araliaceae, Caryophyllaceae, Asteraceae, Primulaceae et la famille des Sapindaceae (Hostettmann et Marston, 1995). 1500 espèces de la famille des Chenopodiaceae, réparties en 100 genres contiennent des saponines triterpéniques, l'acide oléanolique étant l'aglycone prépondérante. Les saponines de type dammarane sont fréquentes surtout chez la famille des Araliaceae, Cucurbitaceae et Rhamanceae (Hostettmann et Marston, 1995).

Saponines stéroïdiques

Les saponines stéroïdiques sont moins répandues dans la nature que le type triterpénique. Les Monocotylédones sont la principale source de saponines stéroïdiques, avec les Liliaceae, les Dioscoreaceae et les Agavaceae. Les genres les plus importants de la famille des Liliaceae comportant des saponines sont : *Trillium*, *Chloroganum*, *Smilax*, *Nolina*, *Agapanthus*, de la famille des Agavaceae : *Agave*, *Yucca* and *Manfreda* et dans les Dioscoreaceae : *Dioscorea*. Les saponines stéroïdiques ont été aussi retrouvées dans la famille des Amaryllidaceae, Bromeliaceae et les Palmaceae. Le genre *Smilax* comprend principalement des plantes grimpantes, avec des saponines dans les racines ligneuses. Les espèces de *Dioscorea* dont 250 sont connues, comprennent des saponines dans leurs rhizomes bulbeux.

Certains genres appartenant à des familles de Dicotylédones contiennent aussi des saponines stéroïdiques comme les Scrophulariaceae (*Digitalis*), les Fabaceae (*Trigonella*), les Solanaceae, les Simaroubaceae, les Cornaceae, les Zygophyllaceae, les Ranunculaceae, les Asteraceae, et les Brassicaceae (Hostettmann et Marston, 1995).

III.2.5. Extraction

Les procédures d'extraction sont très délicates, car certaines saponines peuvent subir les transformations suivantes :

- Hydrolyse enzymatique pendant l'extraction.
- Estérification des saponines acides pendant le traitement.

- Hydrolyse des groupes esters labiles.
- Transacylation.

Bien que de nombreuses variations soient possibles, les procédures générales actuelles pour l'obtention des mélanges de saponine brutes sont les suivantes :

- Extraction avec le méthanol, l'éthanol, l'eau ou l'alcool aqueux.
- Étape de dégraissage, cela peut être effectué avant l'étape d'extraction ou sur l'extrait lui-même.
- Les extraits sont dissous ou mis en suspension dans de l'eau et secoués avec du n-butanol saturé d'eau (étape de partage entre le n-butanol et l'eau).
- Précipitation (facultatif) de saponines avec de l'éther diéthylique ou de l'acétone.

Pour enrichir les extraits en saponines, il peut être utile de recourir à la dialyse, à la chromatographie d'exclusion sur gel ou à la chromatographie échangeuse d'ions (Hostettmann et Marston, 1995).

III.2.6. Isolement et purification

L'isolement de saponines pures nécessite un ou (comme c'est presque toujours le cas) plusieurs étapes de séparations chromatographiques afin d'éliminer les autres composés polaires des extraits alcooliques ou aqueux de la plante. Une variété de techniques peut être utilisée comme la chromatographie liquide à pression atmosphérique sur une colonne ouverte, la chromatographie flash, la chromatographie liquide à moyenne pression (MPLC) et la chromatographie liquide haute performance (HPLC). Trois types de support sont souvent utilisés, notamment la silice en phase normale, la silice en phase inverse (RP-18) et le gel de Sephadex LH-20. Des solvants variés mettent en jeu la plupart du temps des mélanges de chloroforme-méthanol-eau sur silice normale, des mélanges méthanol-eau sur silice en phase inverse et des mélanges acétonitrile-eau en HPLC (Cheok et al., 2014 ; Hostettmann et Marston, 1995).

III.2.7. Caractérisation

Il y a beaucoup de réactions colorées pour la détection des sapogénines triterpéniques, mais peu pour les sapogénines stéroïdiques et les saponines en général. Le contrôle des étapes d'un procédé de séparation, la détermination spectrophotométrique et colorométrique peut faire intervenir ces réactions colorées :

Les aldéhydes aromatiques : L'aldéhyde anisique, la vanilline et d'autres aldéhydes aromatiques en milieu acide fort (par exemple, acide perchlorique, acide sulfurique, acide phosphorique) donnent des produits fortement colorés avec les aglycones (Hostettmann et Marston, 1995). L'absorption maximale de ces entités se situent entre 510 et 620 nm, résultant sans doute de la réaction des aldéhydes avec les produits de déshydratation des génines. Ces réactions ne sont cependant pas spécifiques et un certain nombre d'autres classes de substances peuvent réagir. De plus, lorsqu'un acide fort est utilisé seul comme réactif de coloration ou en combinaison, l'acide produit des furfurals à partir des fractions sucrées des saponines, et ils compliquent la détermination colorimétrique des saponines (Hiai et al., 1976). Avec l'acide sulfurique-vanilline, l'absorption du spirostane se situe entre 455 à 460 nm alors que les saponines triterpéniques avec un groupement hydroxyle ont un pic d'absorption entre 460 et 485 nm (Hostettmann et Marston, 1995 ; Hiai et al., 1976).

Test de Liebermann-Buchard : Les triterpènes et les stéroïdes donnent des colorations rouges, bleues ou vertes avec l'anhydride acétique en milieu sulfurique. Puisque, les saponines terpéniques tendent à donner une nuance rose ou pourpre, les saponines stéroïdiques une coloration bleu-verte, la différenciation entre les deux classes est possible (Hostettmann et Marston, 1995).

Sulfates de cerium ou sulfates de fer et les acides inorganiques, tel que l'acide sulfurique : donnent une coloration rouge-violet avec les saponines (Hostettmann et Marston, 1995).

Solution à 30 % de chlorure d'antimoine (III) dans l'acide acétique-anhydride acétique : Ce réactif donne des réactions colorées avec les stéroïdes et les triterpènes hydroxylés (Hostettmann et Marston, 1995).

Chlorure d'antimoine dans le mélange de nitrobenzène-méthanol : La différenciation des dérivés dihydro 5,6-glycosides stéroïdiques (diosgénine et glycosides de solasodine) et 5 α et 5 β -H-dérivés (comme tomatine) est possible avec le chlorure d'antimoine dans le nitrobenzène-méthanol : les 5-6- dihydro drivés donnent des réactions rouges à la température ambiante (Hostettmann et Marston, 1995).

La réaction de Ehrlich: Les dérivés du furostanol donnent des réactions rouges avec le réactif de Ehrlich (1g p-diméthylaminobenzaldehyde + 50 ml de HCl à 36 % + 50 ml d'éthanol ; pulvérisé et chauffé) ; et une coloration jaune avec l'ansaldehyde. Les dérivés du spirastanol ainsi que les glycosides des pennogénines ne réagissent pas (Hostettmann et Marston, 1995).

Carbazole : La présence des acides uroniques peut être établie avec le carbazole, en présence de borate et d'acide sulfurique concentré (Hostettmann et Marston, 1995).

Indice hémolytique : La capacité des saponines de provoquer la rupture des membranes érythrocytaires a été utilisée pendant des décennies comme l'une des principales méthodes de détection et d'évaluation quantitative (Hostettmann et Marston, 1995).

III.2.8. Détermination structurale des saponines

L'élucidation structurale des saponines inclut principalement la détermination de la structure de l'aglycone, les fonctions impliquées, la position ainsi que la nature des liaisons des oses ou des oligosides liés à la génine et des liaisons interglycosidiques.

La complexité structurale des oligosaccharides résultant des positions variables des liaisons [(1-2), (1-3), (1-4), (1-6), etc.], des configurations anomériques des oses (α ou β) des liaisons glycosidiques, de la forme de l'anneau (forme pyranose ou furanose) des unités de monosaccharides, de la structure des oligosaccharides parfois ramifiées et qui peuvent avoir un substituant qui n'est pas de nature d'hydrate de carbone tels que l'acétate et le phosphate, posent des difficultés fondamentales dans l'élucidation de la structure des saponines qui requièrent souvent des études longues après même que la composition en monosaccharides a été déterminée.

L'élucidation de la structure des saponines repose aussi sur la spectroscopie et les techniques connexes - IR, UV, RMN, MS, dispersion optique rotative (ORD), dichroïsme circulaire (CD), analyse des rayons X. Les progrès modernes dans certaines de ces techniques, notamment dans la spectroscopie RMN et la MS, ont facilité énormément la tâche difficile d'analyser les saponines. De plus, la spectroscopie RMN et MS sont des techniques non destructrices et permettent l'examen de la saponine intacte (Hostettmann et Marston, 1995).

Les saponines du genre Bupleurum

Des glycosides triterpéniques, du type oléanane, constituent la principale classe des métabolites secondaires du genre *Bupleurum*, ils sont appelés saikosaponines, terme dérivé du « saiko », nom commun des espèces *Bupleurum* utilisé dans la médecine de Kampo (Pan, 2006). Leurs taux s'élèvent à plus de 7 % du poids total sec des racines (Ashour et al., 2010). Jusqu'à maintenant, plus de 120 saponines type oléanane et ursane ont été isolés des espèces de *Bupleurum*. Les aglycones des saikosaponines ont une structure triterpénique pentacyclique oxygénée, étroitement liée, se distinguant seulement par la position et le

nombre de doubles liaisons dans les cycles C et D et d'oxygénation dans les positions 16, 23, 28 et 30. A ce jour, plus de 100 saikosaponines en été rapportés, et peuvent être regroupés en six types (Pan, 2006) (Voir figure 4) :

Les saikosaponines de type I renferment la saikosaponine a, d, et c, qui sont les plus abondantes dans le genre *Bupelurum*. Leurs aglycones sont le 13 β , 28-époxyolean-11-ène-16-ol.

Les saikosaponines de type II ont deux doubles liaisons. Presque tous, dérivent des saikosaponines de type I pendant l'ouverture du pont 13, 28-époxy, la saikosaponine-a se transforme en saikosaponine-b1 et b-3, alors que la saikosaponine-d se transforme en saikosaponine-b2 et -b4.

Les saikosaponines de type III, IV et V sont également des dérivés de saikosaponines de type I.

La structure de saikosaponines de quelques espèces du genre *Bupleurum* est représentée dans le tableau 4.

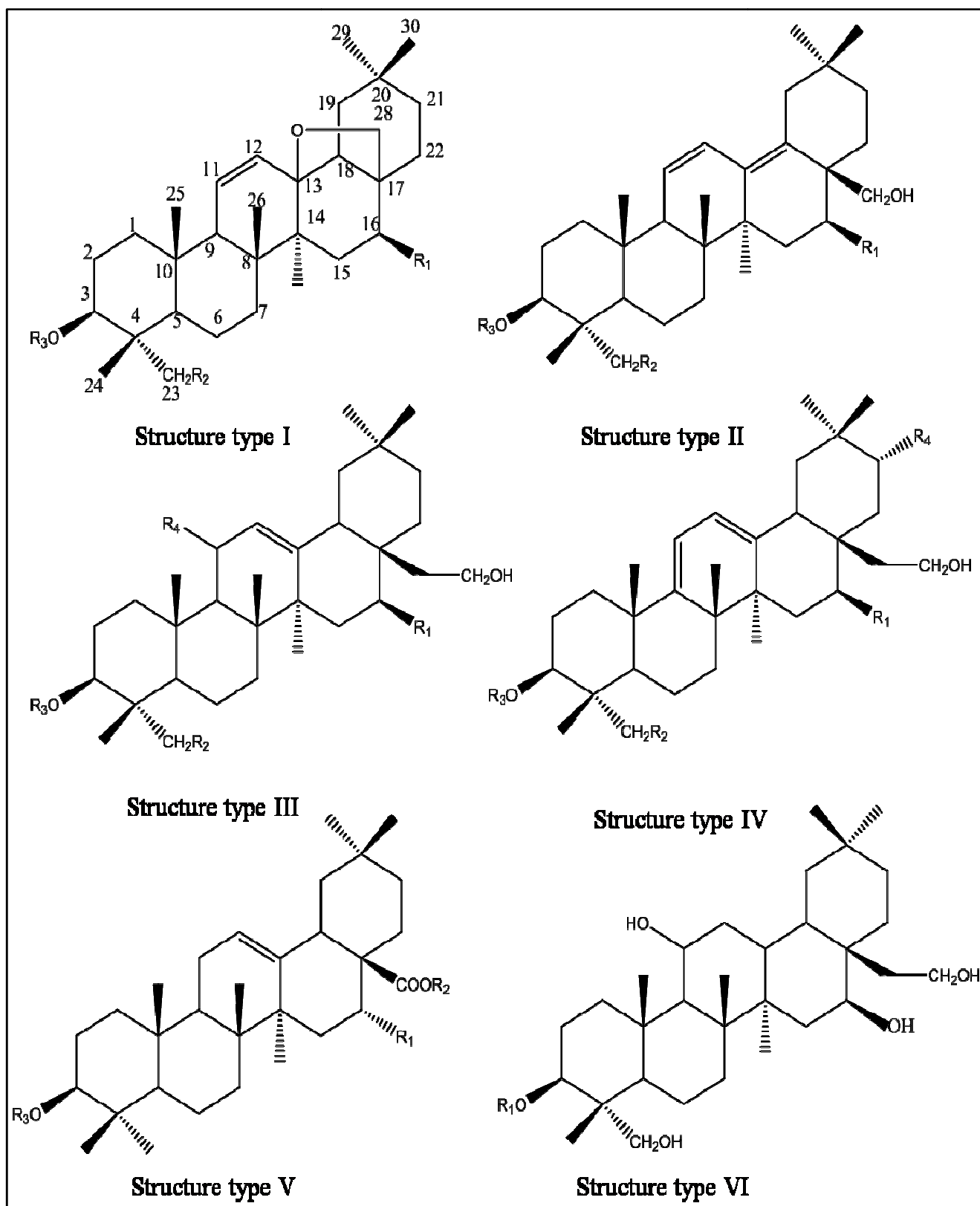


Figure 4 : Structure de saikosaponines (Pan, 2006)

Tableau 4 : Structure de saikosaponines isolées du genre *Bupleurum*

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
Saikosaponin a	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Kubota et al, 1968
Saikosaponin d	I	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Kubota et al, 1968
Saikosaponin c	I	β -OH	H	β -D-Glc-(1-6)-[α -L-Rha-(1-4)]- β -D-Glc-		<i>B. falcatum</i> L.	Kubota et al, 1968
3''-O -Acetylsaikosaponin d	I	α -OH	OH	3''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
6''-O -Acetylsaikosaponin d	I	α -OH	OH	6''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
6''-O -Acetylsaikosaponin a	I	β -OH	OH	6''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
23-O -Acetylsaikosaponin a	I	β -OH	OAc	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
Saikosaponin e	I	β -OH	H	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
Saikosaponin c	I	β -OH	H	β -D-Glc-(1-6)-[α -L-Rha-(1-4)]- β -D-Glc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
Chikusaikoside I	I	β -OH	OH	β -D-Xyl-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. longeradiatum</i> Turcz.	Kimata et al, 1982
Chikusaikoside II	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-6)-[α -L-Rha-(1-4)]- β -D-Glc-		<i>B. longeradiatum</i> Turcz.	Kimata et al, 1982
Prosaikogenin F	I	β -OH	OH	β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Prosaikogenin G	I	α -OH	OH	β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Rotundioside F	I	α -OH	H	β -L-Rha-(1-2)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
Rotundioside G	I	α -OH	H	β -D-Xyl-(1-2)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
16-epi-chikusaikoside I	I	α -OH	OH	β -D-Xyl-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 b
4'' -O-acetylsaikosaponin-a	I	β -OH	OH	4''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 b
2''-O-acetylsaikosaponin-d	I	α -OH	OH	2''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 b
2''-O-acetylsaikosaponin-a	I	β -OH	OH	2''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 b
3''-O-acetylsaikosaponin-a	I	β -OH	OH	3''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 b
3'',4''-di-O-acetylsaikosaponin-d	I	α -OH	OH	3'',4''-di-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
3'',6''-di-O-acetylsaikosaponin-d	I	α -OH	OH	3'',6''-di-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
3'',4''-di-O-acetylsaikosaponin-a	I	β -OH	OH	3'',4''-di-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
3'',6''-di-<i>O</i>-acetylsaikosaponin-a	I	β -OH	OH	3'',6''-di- <i>O</i> -acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
2'',3''-di-<i>O</i>-acetylsaikosaponin-a	I	β -OH	OH	2'',3''-di- <i>O</i> -acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
2'',3''-di-<i>O</i>-acetylsaikosaponin-d	I	α -OH	OH	2'',3''-di- <i>O</i> -acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
4'',6''-di-<i>O</i>-acetylsaikosaponin-d	I	α -OH	OH	4'',6''-di- <i>O</i> -acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
3''-<i>O</i>-acetylsaikosaponin-e	I	β -OH	H	3''- <i>O</i> -acetyl- β -D-Glc-(1~3)- β -D-Fuc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al, 1986 c
Malonylsaikosaponin a	I	β -OH	OH	6''- <i>O</i> -malonyl-Glc-(1-3)- β -D-Glc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ebata et al, 1990
Malonylsaikosaponin d	I	α -OH	OH	6''- <i>O</i> -malonyl-Glc-(1-3)- β -D-Glc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ebata et al, 1990
3β,16β,23-Trihydroxy- 13,28-epoxyolean-11-en-3β-yl-[β-D-glucopyranosyl (1-2)]-[β-D-glucopyranosyl (1-3)]-β-D-fucopyranoside	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-		<i>B. fruticosum</i> L.	Pistelli et al, 1993a
Buddlejasaponin IV	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-		<i>B. fruticosum</i> L.	Guinea et al, 1994
Malonylbuddlejasaponin IV	I	β -OH	OH	6''- <i>O</i> -malonyl- β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-		<i>B. fruticosum</i> L.	Guinea et al, 1994
3-acetoxy, 16α-hydroxy-13,28-epoxyolean-11-en-3β-yl-[β-D-glucopyranosyl (1-2)]-[β-D-glucopyranosil (1-3)]-β-D-fucopyranoside	I	α -OH	OCOCH ₃	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-		<i>B. fruticosum</i> L.	Pistelli et al, 1996
23-acetoxy, 16α-hydroxy-13,28-epoxyolean-11-en-3β-yl-[β-D-glucopyranosyl (1-2)]-[β-D-glucopyranosil (1-3)]-β-D-fucopyranoside	I	β -OH	OCOCH ₃	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-		<i>B. fruticosum</i> L.	Pistelli et al, 1996
4''-<i>O</i>-acetylsaikosaponin d	I	α -OH	OH	4''- <i>O</i> -acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Ebata et al, 1996
Sandrasaponin I	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4- <i>O</i> -sulfo- β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 1998
Sandrasaponin II	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4- <i>O</i> -sulfo- β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-29-CH ₂ OH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
Sandrasaponin III	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4- <i>O</i> -sulfo- β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-29-CH ₃ 30-COOH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a
Sandrasaponin IV	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4- <i>O</i> -sulfo- β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-29-CH ₂ OH 30-COOH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a
Sandrasaponin V	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4- <i>O</i> -sulfo- β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-29-CH ₃ 30-CH ₂ OH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a
Sandrasaponin VII	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4- <i>O</i> -sulfo- β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-29-CH ₂ OH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 b
6''- <i>O</i> -acetylsaikosaponin e	I	β -OH		β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Yu et al, 2013
3 β ,16 β -dihydroxy-23- <i>O</i> -acetyl-13 β ,28 β -epoxy-olean-11-ene 3- <i>O</i> - β -D-fucopyranoside	I	β -OH	O-Ac	β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Li et al, 2015
6''- <i>O</i> -crotonyl-saikosaponin a	I	β -OH	OH	6''- <i>O</i> -crotonyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li	Fang et al, 2017
Saikosaponin X	I	=O	OH	β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-15 α -OH		<i>B. chinense</i> DC.	Wang et al, 2017
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1-2)-[β -D-glucopyranosyl-(1-3)]- β -D-fucopyranosyl-21- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,21 β ,23-tetrahydroxy-13,28-epoxyolean-11-ene	I	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-21- β -D-Glc-		<i>B. rigidum</i> L.	Chelghoum et al, 2018
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1-2)-[β -D-glucopyranosyl-(1-3)]- β -D-fucopyranosyl-3 β ,16 α ,23-trihydroxy-13,28-epoxyolean-11-ene	I	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. rigidum</i> L.	Chelghoum et al, 2018
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1-2)-[4- <i>O</i> -sodium sulfate- β -D-glucopyranosyl-(1-3)]- β -D-fucopyranosyl-3 β ,16 α ,23-trihydroxy-13,28-epoxyolean-11-ene	I	α -OH	OH	NaO ₃ SO- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. rigidum</i> L.	Chelghoum et al, 2018
Saikosaponin b1	II	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimaoka et al., 1975

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
Saikosaponin b2	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimaoka et al., 1975
6''-O-acetylsaikosaponin b2	II	α -OH	OH	6''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-			
Rotundioside E	II	α -OH	H	β -L-Rha-(1-2)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
Prosaikogenin A	II	β -OH	OH	β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Prosaikogenin D	II	α -OH	OH	β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Saikosaponin h	II	β -OH	H	β -D-Glc-(1-6)- α -L-Rha-(1-4)- β -D-Glc-		<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
30- β -D-glucopyranosyl 30-hydroxysaikosaponin-b ₂	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- 30-O- β -D-Glc-		<i>B. polyclonum</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al 1986a
3''-O-acetylsaikosaponin-b ₂	II	α -OH	OH	3''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. polyclonum</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al 1986a
2''-O-acetylsaikosaponin-b ₂	II	α -OH	OH	2''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. polyclonum</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al 1986a
3'',6''-O,O-diacetylsaikosaponin b2	II	α -OH	OH	3'',6''-O,O-diacetyl- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. polyclonum</i> Y. Li et S. L. Pan	Seto et al 1986a
Saponin BK1	II	α -OH	H	β -D-Glc-(1-6)- α -L-Rha-(1-4)- β -D-Glc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Luo et al, 1987
Saponin BK2	II	α -OH	H	β -D-Glc-(1-6)- α -L-Rha-(1-4)- β -D-Glc- 30-CH ₂ OH		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Luo et al, 1987
Saponin BK3	II	β -OH	H	β -D-Glc-(1-6)- α -L-Rha-(1-4)- β -D-Glc- 28-O- β -D-Glc-		<i>B. kunmingense</i> Y. Li et S. L. Pan	Luo et al, 1987
2''-O- β -D-xylopyranosylsaikosaponin b2	II	α -OH	OH	β -D-Xyl-(1-2)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. wenchuanense</i> Shan et T. Li	Luo et al, 1993
Saikosaponin k	II	β -OH	OH	β -D-xyl-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- 30-OH		<i>B. smithii</i> H. Wolff	Chen et al, 1993
Saikosaponin l	II	α -OH	OH	β -D-xyl-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- 30-CH ₂ OH		<i>B. smithii</i> H. Wolff	Chen et al, 1993
16 α ,23,28,30-Tetrahydroxyolean-11,13(18)-dien-3 β -yl- β -D-glucopyranol-(1-3)- β -D-Fucopyranoside	II	α -OH	OH 30-CH ₂ OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. falcatum</i> L.	Pistelli et al, 1993b
Saikosaponin m	II	H	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. smithii</i> H. Wolff	Zhang et al, 1994
Saikosaponin n	II	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-6)- α -L-Rha-(1-4)- β -D-Glc-		<i>B. smithii</i> H. Wolff	Zhang et al, 1994

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
Saikosaponin o	II	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-6)- β -D-[Glc-(1-2)-]- β -D-Glc-		<i>B. smithii</i> var. <i>parvifolium</i> Shan et Y. Li	Zhao et al, 1996
Saikosaponin p	II	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-6)-[β -D-Glc-(1-2)]- β -D-Glc-		<i>B. smithii</i> H. Wolff	Luo et al, 1996
Scorzonerose A	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Rha-30- β -D-Glc-(1-5)-pentito-(1-)		<i>B. scorzonerifolium</i> Willd.	Yoshikawa et al., 1997
Scorzonerose B	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Rha-30-pentito		<i>B. scorzonerifolium</i> Willd.	Yoshikawa et al., 1997
Scorzonerose C		α -OH	OH	β -D-Rha-30-pentito		<i>B. scorzonerifolium</i> Willd.	Yoshikawa et al., 1997
Saikosaponin u	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-30-oic acid-30-0-[pentito(1-1)- β -D-Glc-(6-)]ester		<i>B. scorzonerifolium</i> Willd.	Tan et al, 1999
Saikosaponin v	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-30-oic acid-30-0-[pentito(1-1)- β -D-Glc-(6-)]ester		<i>B. scorzonerifolium</i> Willd.	Tan et al, 1999
Saikosaponin v-1	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-30-0-xylitol ester		<i>B. chinense</i> DC.	Liu et al, 2000
Sandrasaponin VI	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4-O-sulfo- β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-30-CH ₂ OH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 b
Sandrasaponin VIII	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[4-O-sulfo- β -D-Glc-(1-3)-]- β -D-Fuc-30-CH ₂ OH 28-COOH		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a
3 β ,16 α ,23,28-Tetrahydroxyoleana-11,13(18)-dien-30-oic acid 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1-2)- β -D-glucopyranosyl-(1-3)- β -D-fucopyranoside	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-COOH		<i>B. spinosum</i> L.	Barrero et al, 2000
3 β ,16 α ,23,28-30-Pentahydroxyoleana -11,13(18)-diene 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1-2)- β -D-glucopyranosyl-(1-3)- β -D-fucopyranoside	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-30-CH ₂ OH		<i>B. spinosum</i> L.	Barrero et al, 2000
Saikosaponin v-2	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-30-oic acide-30-O-[xylito-(1-1)- β -D-Glc-(-6)]ester		<i>B. chinense</i> DC.	Liang et al, 2001
6''-O-acetylsaikosaponin e	II	α -OH		β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-21 β -OH		<i>B. chinense</i> DC.	Yu et al, 2013
6''-O-acetylsaikosaponin b ₁	II	β -OH	OH	6''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Yu et al, 2013

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
21β-Hydroxysaikosaponin b₂	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Yu et al, 2013
16α,23α,28b-trihydroxyoleana-11,13(18)-diene-3-one	II	=O	OH	-		<i>B. chinense</i> DC.	Li et al, 2015
3β,23α,28b-trihydroxyoleana-11,13(18)-diene-16-one	II	=O	=O	-		<i>B. chinense</i> DC.	Li et al, 2015
Tibesaikosaponin	II	=O	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- 6 α -OH		<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li.	Fang et al, 2017
Tibesaikosaponin	II	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- 30-CH ₂ OH		<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li.	Fang et al, 2017
Saikosaponin Y-1	II	α -OH	H	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Wang et al, 2017
Saikosaponin Y-2	II	β -OH	H	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Wang et al, 2017
23-O-acetyl-saikosaponin B2	II	α -OH	O CH ₃	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Fuc-		<i>B. chinense</i> DC.	Wang et al, 2017
Desulfated sandrosaponin VI	II	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc- 29-OH		<i>B. rigidum</i> L.	Chelghoum et al, 2018
Saikosaponin b3	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. falcatum</i> L.	Shimaoka et al., 1975
Saikosaponin b4	III	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. falcatum</i> L.	Shimaoka et al., 1975
6''-O-Acetylsaikosaponin b₄	III	α -OH	OH	6''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
Saikosaponin f	III	β -OH	H	β -D-Glc-(1-6)-[α -L-Rha-(1-4)]- β -D-Glc-	H	<i>B. falcatum</i> L.	Ishi et al, 1980
Rotundioside D	III	α -OH	H	β -L-Rha-(1-2)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-	H	<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
3'',4''-di-O-acetylsaikosaponin-b₄	III	α -OH	OH	3'',4''-di-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-fuc-	α -O CH ₃	<i>B. fruticosum</i> L.	Seto et al, 1986 c
16α,23,28-Trihydroxy-11α-methoxyolean-12-en-3β-yl-[β-D-glucopyranosyl (1-2)]-β-D-glucopyranosyl(1-3)]-β-D-fucopyranoside	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. fruticosum</i> L.	Pistelli et al, 1993a
11α,16β,23,28-Trihydroxy-12-en-3β-yl-[β-D-glucopyranosyl (1-2)]-β-D-glucopyranosyl(1-3)]-β-D-fucopyranoside	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-2)-[β -D-Glc-(1-3)]- β -D-Fuc-	OH	<i>B. fruticosum</i> L.	Pistelli et al, 1993a
Hydroxysaikosaponin a	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -OH	<i>B. falcatum</i> L.	Ebata et al, 1996
Hydroxysaikosaponin d	III	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -OH	<i>B. falcatum</i> L.	Ebata et al, 1996
Hydroxysaikosaponin c	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-6)-[α -L-Rha-(1-4)]- β -D-Glc-	α -OH	<i>B. falcatum</i> L.	Ebata et al, 1996

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
Bupleuroside III	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. scorzoniferolium</i> Willd.	Matsuda et al., 1997
Bupleuroside IV	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- C ₁₁ =O	α -O CH ₃	<i>B. scorzoniferolium</i> Willd.	Matsuda et al., 1997
Bupleuroside IX	III	β -OH	H	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. scorzoniferolium</i> Willd.	Matsuda et al., 1997
Saikosaponin w	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-fuc-	NH-CO-NH ₂	<i>B. chinense</i> DC.	Yu et al, 2013
6''-O-acetylsaikosaponin b₃	III	β -OH	OH	6''-O-acetyl- β -D-Glc-(1-3)- β -D-fuc-	α -O CH ₃	<i>B. chinense</i> DC.	Yu et al, 2013
3β,16β,23,28-tetrahydroxy-11α-methoxy-olean-12-ene 3-O-β-D-fucopyranoside.	III	β -OH	OH	β -D-Fuc-	α -O CH ₃	<i>B. chinense</i> DC.	Li et al, 2015
16b,22a,23a,28b-tetrahydroxy-11a-methoxyl-olean-12-en-3-one	III	β -OH	OH	=O	α -O CH ₃	<i>B. chinense</i> DC.	Li et al, 2015
Tibesaikosaponin	III	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- Double liaison entre C-15 et C-17 15=O	α -O CH ₃	<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li.	Fang et al, 2017
3β,16β,23,28-tetrahydroxy-11α-butoxy-olean-12-ene-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1-3)-β-D-fucopyranoside	III	β -OH		β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O C ₄ H ₉	<i>B. chinense</i> DC.	Wang et al, 2017
3β,16α,23,28-tetrahydroxy-11α-butoxy-olean-12-ene-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1-3)-β-D-fucopyranoside	III	α -OH		β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	α -O C ₄ H ₉	<i>B. chinense</i> DC.	Wang et al, 2017
Saikosaponin g	IV	β -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	H	<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Saikosaponin i	IV	β -OH	H	β -D-Glc-(1-6)- α -L-Rha-(1-4)- β -D-Glc-	H	<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Prosaikogenin H	IV	β -OH	OH	β -D-Fuc-	H	<i>B. falcatum</i> L.	Shimizu K et al., 1985
Tibesaikosaponin	IV	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	H	<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li.	Fang et al, 2017
Saikosaponin Z	IV	α -OH	OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	H	<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li.	Wang et al, 2017

Saponine	Type	R1	R2	R3	R4	Espèce	Référence
23-O-acetyl-saikosaponin B₂	IV	α -OH	α -OH	β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc-	H	<i>B. marginatum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Wolff) Shan et Y. Li.	Wang et al, 2017
Rotundioside A	V	β -OH	-SO ₃ H	β -D-Glc-(1-6)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-6)- β -D-Glc-		<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
Rotundioside B	V	H	-SO ₃ H	β -D-Glc-(1-6)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-6)- β -D-Glc-		<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
Rotundioside C	V	H	-SO ₃ H	β -D-Glc-(1-6)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-(1-2)- β -D-Glc-		<i>B. rotundiflorum</i> L.	Akai et al, 1985
Saiosaponine S₁	V	H	β -D-Glc-	α -L-Arab-(1-3)- β -D-Glc-		<i>B. chinense</i> DC.	Seto et al, 1986d
Sandrasaponin IX	V	H	β -D-Glc-	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Gal-(1-2)- β -D-Glc-		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a
Sandrasaponin X	V	H	H	β -D-Glc-(1-2)- β -D-Gal-(1-2)- β -D-Glc-		<i>B. rigidum</i> L.	Sanchez-Contreras et al, 2000 a
Bupleuroside XII	VI			β -D-Glc-(1-3)- β -D-Fuc- Double liaison en C17 et C18		<i>B. scorzoniferifolium</i> Willd.	Matsuda et al., 1997

*IV. Travaux biologiques
antérieurs*

IV. 1. Activités biologiques des saponines

IV.1.1. Activité cytotoxique et anti-tumorale

On a signalé beaucoup de saponines isolées qui possèdent, à divers degrés, une cytotoxicité *in vitro* contre une grande variété de cellules cancéreuses. Cette cytotoxicité a été mesurée contre une grande variété de cellules avec des IC₅₀ allant de 0.0045 µg/ml jusqu'à 20 µg/ml selon la nature des saponines et des lignées cellulaires testées. Les saponines d'intérêt sont la classe des saponines appelées « les bidesmosides cycliques » qui ont montré une cytotoxicité efficace contre un panel de 60 variétés de cellules cancéreuses humaines (Lacaille-Dubois, 2000). Cependant les saponines à forte cytotoxicité n'ont pas toujours des propriétés anti-tumorales (Sparg et al., 2004) et peu de saponines possèdent une activité anti-tumorale *in vivo* (Lacaille-Dubois, 1996).

IV.1.2. Activité antivirale

On a également signalé que les saponines avaient des activités antivirales et bien que les études sur les propriétés antivirales des saponines n'aient pas dépassé le niveau expérimental, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont été rapportées dans plusieurs travaux. Les activités les plus pertinentes ont été obtenues au cours de la dernière décennie contre des virus tels que l'hépatite A, B, C (HAV, VHB, VHC) et certains virus enveloppés importants (VIH, HSV, VSV, CMV et virus de la grippe) (Lacaille-Dubois, 1996, 2000).

IV.1.3. Activité anti-inflammatoire

Beaucoup de saponines isolées de différentes plantes produisent une inhibition de l'inflammation de l'œdème induit par la carraghénine chez la souris (Sparg et al., 2004). Les mécanismes peuvent être indirects (plusieurs saponines) et directs (saikosaponine d et ginsénoside). Ces mécanismes directs incluent une activité cortico-mimétique, inhibition de la dégradation de glucocorticoïdes (glycyrrhizine), et inhibition de la formation des médiateurs de l'inflammation (ginsenosides R_{b2}, R_c, R_e, saikosaponines a, c, d) (Lacaille-Dubois, 1996, 2000).

IV. 1.4. Activité molluscicide

Comme cela a été montré, de nombreuses saponines ont démontré des activités molluscicides contre *Biomphalaria glabrata*, l'hôte intermédiaire de la schistosomiase intestinale. Les composés molluscicides actifs étaient principalement des glycosides d'acide oléanolique monodesmosidiques. (Lacaille-Dubois, 1996). La toxicité vis-à-vis des espèces à sang froid a

conduit à l'utilisation de médicaments contenant de la saponine pour attraper des poissons (Sparg et al., 2004)

IV.1.5. Activité immunostimulante

Plusieurs saponines ont montré leurs capacités à modifier in vitro la fonction immunitaire (humorale et cellulaire) d'une manière non-antigène dépendante. Ces molécules ont montré une stimulation de la transformation et de la division des lymphocytes, une activation des macrophages et des granulocytes et de la production des cytokines (Lacaille-Dubois., 2000).

IV.1.6. Autres activités

Les saponines possèdent beaucoup d'autres activités démontrées dans plusieurs publications (Lacaille-Dubois, 1996 ; Lacaille-Dubois, 2000 ; Sparg et al., 2004).

- activité antihépatotoxique.
- activité antifongique.
- activité antimicrobienne.
- activité hypoglycémiante.
- activité sur le système cardiovasculaire.
- activité sur le système nerveux central.
- activité anti-parasitaire.

IV.2. Propriétés pharmacologiques du genre *Asphodelus*

Les activités biologiques de différentes espèces d'*Asphodelus* sont reportées dans le tableau 5. Les différents extraits montrent surtout des activités antimicrobiennes, anti-oxydantes, hypotensives, diurétiques, anticancéreuses et gastro-protectives. Ces activités sont dues à la richesse de ces espèces en différents métabolites secondaires : anthraquinones, flavonoïdes, triterpénoïdes et acides phénols.

Tableau 5 : Activités pharmacologiques de quelques espèces d'*Asphodelus*

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Extrait aqueux	Décoction	Racines	Activité gastroprotective : activité anti-ulcérogène induite par l'éthanol	Protection significative contre les lésions induites.	Gürbüz et al., 2012
	Extrait aqueux et éthanolique	Chauffage à reflux	Feuilles	Activité anti-oxydante in vitro Activité antiradicalaire : β -carotène, chélation des métaux, DPPH, ABTS, inhibiteur de la peroxydation de l'acide linoléique, anion superoxyde	L'extrait aqueux présente une activité dans la chélation des métaux, et des radicaux libres (DPPH, IC ₅₀ eau = 4.58 mg/mL et IC ₅₀ méthanol = 9.54 mg/mL) L'extrait éthanolique présente une activité meilleure dans le blanchiment du β -carotène et dans l'effet anti-oxydant total L'extrait aqueux et éthanolique présentent une activité similaire en ABTS.	Peksel et al., 2012
				Activité anti-fongique in vitro (<i>A. niger</i>) Méthode de diffusion dans la gélose	Extrait éthanolique a montré une activité antifongique importante.	
	Extrait méthanolique et acétonique	Chauffage à reflux	Feuilles	Activité anti-oxydante in vitro Activité anti-radicalaire : DPPH, ABTS, Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, Activité anti-radicalaire de l'anion superoxyde	La puissance de réduction et l'activité anti-oxydante totale sont plus importantes dans l'extrait acétonique, tandis que l'extrait méthanolique a montré un plus haut pouvoir antiradicalaire libre et de l'anion superoxyde (DPPH, IC ₅₀ méthanol = 0.16 mg/mL, IC ₅₀ acétone = 0.50 mg/mL).	Peksel et al., 2014
	Extrait de diethyl ether, ether de pétrole, ethyl acetate, méthanol et aqueux	Chauffage à reflux	Tubercules	Activité antioxydante in vitro Activité anti-radicalaire DPPH	L'extrait de diethyl ether (IC ₅₀ = 22.46g/mL) a une activité plus importante que celle d'éthyl acétate (IC ₅₀ = 188.90g/mL) L'extrait méthanolique et aqueux n'ont pas d'activité anti-radicalaire DPPH.	Aslantürk et al., 2013
				Activité cytotoxique et apoptotique in vitro Test d'exclusion avec le blue trypan, Test comet alcaline sur les cellules MCF-7	L'extrait aqueux et méthanolique ont montré une activité cytotoxique importante. Tous les extraits ont montré des dommages sur l'ADN et une action apoptotique.	
	Ether de pétrole	Soxhlet	Graines	Activité antimicrobienne in vitro Activité antimicrobienne contre les bactéries Gram + et Gram - et 02 espèces de levures par la méthode de diffusion en disque et le test de microdilution	Activité significative de l'huile contre <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>C. albicans</i> Non active contre <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Candida krusei</i> et, <i>Candida parapsilosis</i> .	Fafal et al., 2016
	Extrait aqueux	-	Plante entière	Activité anti-oxydante in vitro : test de	Inhibition = 62.5 %	Unal et al.,

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
				DPPH		2016
	Extrait de n-Hexane, dichlorométhane	Chauffage à reflux	Feuilles et tubercules	Activité anticancéreuse in vitro Cytotoxicité contre deux lignées de cellules cancéreuses humaines pulmonaire (A549) et prostatique (PC3) en utilisant le test au MTT.	Racines : Dichloromethane: A549 (IC ₅₀ = 16 µg/mL), PC3 (IC ₅₀ = 19 µg/mL) n-Hexane: PC3 (IC ₅₀ = 80 µg/mL) Feuilles : Dichloromethane: A549 (IC ₅₀ = 9 µg/mL)	Al Groshi., 2017
<i>Asphodelus luteus</i> L.	Extrait aqueux	Infusion	Parties aériennes	Activité antifongique in vitro Test de diffusion en milieu gélosé	Activité significative contre <i>T. violaceum</i> (MIC = 18 µg/mL), <i>M. canis</i> (MIC = 25 µg/mL) et <i>T. mentagrophytes</i> (MIC = 30 µg/mL)	Ali-shtayeh et al., 1999
	Extrait méthanolique éther de pétrole	Ultra-sons	Parties aériennes et bulbe	Activité anti-bactérienne in vitro : contre <i>S. aureus</i> MRSA in vitro	Activité significative vis-à-vis de MRSA	Al-Kayali et al., 2012
	Extrait méthanolique	Ultra-sons	Racines	Activité anti-oxydante : test au DPPH	Activité anti-oxydante significative (IC ₅₀ = 0.54 mg/ml)	Adawi et al., 2017
<i>Asphodelus microcarpus</i> Salzm. et Viv.	Extrait aqueux	Infusion	Parties aériennes	Activité anti-fongique in vitro Méthode dilution en gélose Détermination de la CMI	Activité modérée contre <i>T. violaceum</i> (CMI= 25µg/ml) et non active contre <i>M. canis</i> et <i>T. mentagrophytes</i>	Ali-Shtayeh et al., 1999
	Extrait méthanolique	Ultra-sons	Parties aériennes et bulbe	Activité anti-bactérienne in vitro ; contre <i>S. aureus</i> MRSA	Activité significative vis-à-vis de MRSA	Al-Kayali et al., 2012
	Extrait aqueux et éthanolique	Macération	Plante entière	Activité anticancéreuse in vitro : Activité anti Ehrlich Ascites Carcinoma Cells (EACC) en utilisant la technique de trypan blue-exclusion Activité anti-oxydante : Viabilité des cellules HepG-2 en utilisant la technique de SRB Activité anti-oxydante in vitro : Essai de DPPH	L'extrait aqueux montre une meilleure activité anti-cancéreuse et anti-oxydante	Aboul-Ennin et al. 2012
	Extrait méthanoïque	Chauffage à reflux	Plante entière	Activité antimicrobienne in vitro : Technique de diffusion en milieu gélosé	Activité non existante vis-à-vis de <i>E. Coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>B. subtilisa</i>	Abuhamdah et al., 2013
	Extrait aqueux, méthanolique et éthanolique	Macération	Feuilles, fleurs, racines	Activité anti-oxydante in vitro Activité anti-radicalaire ABTS, DPPH Référence (trolox)	Activité anti-oxydante DPPH Extrait éthanolique (Fleurs) : IC ₅₀ = 28.4g/ml Extrait éthanolique (Feuilles) : IC ₅₀ = 55.9g/ml Trolox: IC ₅₀ = 3.2g/ml	Di-Petrillo et al., 2016
				Effet inhibiteur de l'activité de tyrosinase	Activité inhibitrice de la tyrosinase	

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
				in vitro (en utilisant L-3,4-dihydroxyphenyllalanine (L-DOPA) comme substrat) Test de viabilité des cellules murines (CRL - 64 75) Contrôle positif (acide kojique)	L'extrait éthanolique a un meilleur effet inhibiteur	
	Extrait éthanolique	Macération	Feuilles	Activité anti-bactérienne in vitro Diffusion en milieu gélosé	Activité inhibitrice vis à vis des bactéries Gram positif <i>Bacillus clausii</i> (CMI = 250 µg/mL), <i>S. aureus</i> (CMI = 250g/mL), <i>Staphylococcus haemolyticus</i> (CMI = 250 µg/mL) Activité réduite vis à vis des bactéries Gram négatif (<i>E.coli</i> CMI = 500 µg/mL). Non active vis-à-vis de <i>Streptococcus spp</i> et les levures.	Di-Petrillo et al., 2017
				Activité anti-virale Analyse du gène luciférase dans laquelle l'activation du DsRNA-RIG dépendant-I-IFN-B médiation a été induite par le virus de l'Ebola VP35.	Inhibition du virus VP35	
	Extrait méthanolique	Ultra-sons	Racines	Activité anti-oxydante in vitro : test au DPPH	Activité anti-oxydante significative (IC ₅₀ = 0.30 mg/ml)	Adawi et al., 2017
	Extrait méthanolique	Macération	Feuilles	Activité anti-virale in vitro Essai d'inhibition de CPE contre HSV-1 and HAV-10	Activité modérée contre HAV-10 et aucune activité contre HSV-1.	El-Ghaly et al., 2017
				Activité antibactérienne in vitro	Activité antibactérienne importante contre <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> CMI = 78µg/ml.	
				Activité cytotoxique in vitro Essai de viabilité des lignées cellulaires de langue A-549, de colon HCT-116, de sein MCF-7 et de prostate PC3	Activité cytotoxique contre la lignée cellulaire de carcinome pulmonaire A-549	
<i>Asphodelus fistulosus</i> L.	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé	Activité antimicrobienne et antifongique in vitro	Activité positive contre <i>S. aureus</i> Pas d'activité contre <i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Salmonella sp</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>Candida albicans</i> .	Al Yahya et al., 1984
<i>Asphodelus ramosus</i> L.	Extrait chloroformique, aqueux,	Décoction	Racines	Activité anti-inflammatoire Test de l'acide arachidonique (œdème de l'oreille sur souris).	Acide arachidonique : activité positive pour l'extrait chloroformique et éthaolique. Test de carrageenan : activité non observée.	Rimbau et al., 1996

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
	éthanolique, méthanolique			Test carrageenan (œdème sub-plantaire)		
	Extrait méthanolique, 50 % méthanolique, acétate d'éthyle, aqueux	Macération	Plante entière	Activité anti-oxydante in vitro Activité anti-radicalaire DPPH à 35°C et 65 °C.	L'extrait aqueux à 65° a le meilleur pourcentage d'inhibition.	Apaydin et al., 2017
<i>Aphodelus tenuifolius</i> Cav.	Extrait méthanolique et acétonique	Macération	Parties aériennes	Activité antimicrobienne in vitro : Technique de diffusion en milieu gélosé	Activité positive contre <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>candida tropicalis</i> de l'extrait méthanolique. Activité positive contre <i>K. pneumoniae</i> , <i>C.</i> <i>tropicalis et Cryptococcus luteolus</i> de l'extrait acétonique.	Vaghasiya et al., 2007
	Méthanol/eau (50/50)	Macération	Plante entière	Activité anti-oxydative in vitro : DPPH, ABTS, ABTS ⁺ , NO, OH, O ₂ ⁻ , ONOO ⁻ , activité preventive de l'effet oxydatif de l'ADN	Activité anti-oxydative significative	Kalim et al., 2010
	Ether de pétrole, benzène, chloroforme, acétone, méthanol et aqueux	Chauffage à reflux	Fruits	Activité anti-microbienne in vitro : Méthode de Kirby-Bauer de diffusion en disque	Activité significative de l'extrait acétonique contre <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P.</i> <i>aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> De l'extrait chloroformique contre <i>S. epidermidis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P.</i> <i>aeruginosa</i> , <i>P. vulgaris</i> , , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> De l'extrait méthanolique contre <i>S. epidermidis</i> , <i>P.</i> <i>vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Panghal et al., 2011
	Benzène, Chloroforme, acétate d'éthyle, Méthanol, éther de pétrole.	Non déterminée	Racines	Activité anti-bactérienne et fongicide in vitro Méthode de diffusion en disque	Tous les extraits sont actifs contre <i>B. subtilis</i> , <i>P.</i> <i>vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i> et <i>A. flavus</i> .	Menghani et al., 2012

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
	Extrait d'ether de pétrole, éthanol, méthanol, eau	Chauffage à reflux	Graines	Activité anti-bactérienne in vitro Méthode de diffusion en disque	Ether de pétrole : sans activité antimicrobienne Ethanol : activité contre <i>P. aeruginosa</i> , <i>Vibrio cholerae</i> et <i>S. aureus</i> (CMI = 16 µg/mL); <i>P. mirabilis</i> , <i>S. typhi</i> , <i>Shigella flexneri</i> et <i>Serratia marcescens</i> (CMI = 32 µg/mL). Méthanol : activité contre <i>S. aureus</i> (MIC = 16 µg/mL); <i>V. cholerae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. flexneri</i> et <i>S. marcescens</i> (CMI = 16 µg/mL) Aqueux : activité contre <i>V. cholerae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. typhi</i> et <i>S. Flexneri</i> (CMI = 32 µg/mL); <i>P. aeruginosa</i> et <i>P. Mirabilis</i> (CMI = 16 µg/mL). Pas d'activité antifongique contre <i>C. albicans</i> et <i>A. niger</i> .	Dangi et al., 2013
	Butanol, Acétate d'éthyl, Méthylène chloride.	Macération	Parties aériennes	Activité antibactérienne et antifongique in vitro Méthode de diffusion en disque	Tous les extraits montrent une activité antibactérienne L'extrait de méthylène-chloride a la meilleure activité contre <i>S. aureus</i> (CMI = 1.6 mg/mL), <i>E. faecalis</i> (CMI = 1.0 mg/mL), <i>E. coli</i> (CMI = 1.8 mg/mL) et <i>P. aeruginosa</i> (CMI = 0.15 mg/mL) Tous les extraits montrent une activité contre <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> .	Faidi et al., 2014
	Extrait eau/éthanol 70/30	Macération	Plante entière	Activité hypotensive : mesure de la tension artérielle après administration de l'extrait Activité diurétique : mesure de la diurèse 6h après l'administration de l'extrait	Diminution significative de la tension artérielle Augmentation significative de la diurèse	Aslam et al., 2016
	Extrait méthanolique	Macération	Plante entière	Activité anti-bactérienne et antifongique in vitro Méthode de diffusion en disque Activité anti-parasitaire in vitro Inhibition de la croissance des trophozoïdes	Activité contre <i>E. coli</i> et activité modérée contre <i>S. aureus</i> , <i>S. typhi</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> et <i>A. niger</i> . Activité contre <i>Giardia lamblia</i> (IC ₅₀ = 219.82 µg/mL) et <i>Entamoeba histolytica</i> (IC ₅₀ = 344.62 µg/mL)	Ahmed et al., 2016

IV.3. Propriétés pharmacologiques du genre *Bupleurum*

De nombreuses activités importantes des racines de *Bupleurum* ont été rapportées dans de nombreux travaux comme l'activité anti-inflammatoire, anti-tumorale, antidépressive, antivirale, antibactérienne, hépatoprotectrice, immunorégulatrice, et neuroprotective (Pan, 2006 ; Yuan et al., 2016). Tous ces effets puissants sont dus aux divers métabolites secondaires, en particulier les saikosaponines, dont la teneur peut atteindre 7 % du poids sec total des racines de *Bupleurum*. De plus, de nombreux extraits des racines de *Bupleurum* sont brevetés en Chine. Le tableau 6 résume quelques activités pharmacologiques des extraits de quelques espèces de *Bupleurum*.

Tableau 6 : Activités pharmacologiques de quelques espèces du genre *Bupleurum*

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
<i>B. marginatum</i> Wall. ex DC	Extrait méthanolique	Chauffage à reflux pendant 6 h	Parties aériennes	Activité anti-trypanosomale Méthode de résazurine	L'extrait méthanolique et de dichlorométhane montrent des activités antimicrobiennes et un effet antiprolifératif	Ashour et al., 2014
	Extrait de dichlorométhane			Activité antibactérienne Méthode de diffusion en disque et de microdilution Détermination de la CMI Activité antivirale Test de réduction de plaque Activité anticancéreuse Le test au MTT sur des lignées cellulaires cancéreuses		
<i>B. chinense</i> DC.	Extrait aqueux	Chauffage à reflux pendant 4 h	Racines	Effet sur la toxicité de 5-Fluoro-uracile sur les cellules de la tumeur hépatique HepG2 et des lymphocytes humaines normales	Amélioration de la cytotoxicité induite par 5-Fluoro-uracile sur les cellules HepG2 et protection des lymphocytes normales	Kang et al., 2008
	Extrait aqueux	Chauffage à reflux pendant 3 h	Racines	Activité antivirale Effet sur les cellules Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) infectées par H1N1 virus	Suppression de la sécrétion des RANTES (regulated activation normal T-cell expressed) par les cellules A549 infectées par H1N1	Wen et al., 2011
	Extrait aqueux	Ebullition pendant 45 min	Mélange Racines- vinaigre cuit au four (remède traditionnelle)	Effet sur la distribution des drogues Test d'inhibition de la β -glucuronidase	Activité inhibitrice vis-à-vis de la β - glucuronidase	Chen et al., 2014
	Extrait éthanolique	Chauffage à reflux pendant 4h	Racines	Activité anti-tumorale Activité anti-mélanomateuse A375.S2	Activité antiproliférative moyenne sur les cellules humaines du mélanome A375.S2.	Hu et al., 2016
<i>B. Scorzonerifolium</i> Willd.	Extrait d'acétone	Chauffage à reflux pendant 4 h	Racines	Activité antitumorale Activité antiproliférative des lignées cellulaires cancéreuses humaines A549	IC ₅₀ = 59 μ g/ml vis-à-vis de A549 IC ₅₀ = 150 μ g/ml vis-à-vis de WI38 Activation de l'apoptose et inhibition de l'activité de la télomérase	Cheng et al., 2003
				Activité antitumorale Activité antiproliférative des lignées cellulaires cancéreuses humaines A549	Arrêt de la division cellulaire à la phase G2/M, induisant une polymérisation de la tubuline et une activation de la capase-3 et-9 des cellules A549 et l'apoptose est induite	Cheng et al., 2005

Espèce	Fraction	Méthode	Partie étudiée	Activité	Résultat	Référence
<i>B. yinchowense</i> Shan et Y. Li	Extrait total de saponins	Chromatographie de l'extrait éthanolique à 60 % (macération pendant 6h) en utilisant la résine D101 macroporeuse	Racines	Activité neuroprotective Apoptose induite par la corticostérone sur les cellules PC12.	par l'inhibition de z-VAD-fmk. Effet neuroprotecteur des cellules PC12 Élimination de LDH et augmentation de la perméabilité cellulaire ainsi que la restauration de la fonction mitochondriale.	Li et al., 2013
<i>B. Kaoi</i> T.S.Liu et al.	Extrait méthanolique	Chauffage à reflux pendant 4h	Racines	Activité antitumorale Activité antiproliférative des lignées cellulaires cancéreuses humaines A549	L'extrait active le système Fas/Fas L apoptotique et bloque la progression du cycle cellulaire dans la phase G1	Hsu et al., 2004
	Extrait éthanolique	Chauffage à reflux pendant 4h	Racines	Activité anti-tumorale Activité anti-mélanomateuse A375.S2	Activité antiproliférative efficace sur les cellules humaines du mélanome A375.S2.	Hu et al., 2016
<i>B. falcatum</i> L.	Extrait méthanolique	Chauffage à reflux pendant 24h	Racines	Amélioration de la mémoire Essais comportementaux de labyrinthe	Effet protecteur contre les troubles neuronaux et cognitifs induits par le stress répété de l'immobilisation	Lee et al., 2009
	Extrait méthanolique	Chauffage à reflux pendant 24h	Racines	Activité antidépressive Essai de suspension de queue et champ ouvert	Activité anti-dépressive impliquant le système sérotonergique et noradrénergique	Kwon et al., 2010
	Extrait méthanolique	Chauffage à reflux	Racines	Activité anti-inflammatoire	Diminution d'ALAT dans le sérum des rats avec foie endommagé	Nakahara et al., 2011
	Extrait aqueux	Chauffage à reflux pendant 3h	Racines	Activité anti-thyroïdienne Test de régulation de l'hyperthyroïdisme induit par LT-4	Régulation de l'hyperthyroïdisme Normalisation du stress oxydatif induit par LT4 Réduction de la surcharge hépatique en lipides	Kim et al., 2012
<i>B. longeradiatum</i> Turcz.	Extrait d'acétate d'éthyle	Chauffage à reflux pendant 4h	Racines	Activité anti-angiogénique des cellules endothéliales ombilicales humaines	Inhibition de la formation des tubes like	You et al., 2002

IV.4. Le stress oxydant

IV.4.1. Définition

Le stress oxydant (ou stress oxydatif) résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires anti-oxydantes. A l'état physiologique, des composés en fort potentiel oxydant, sont produits constamment et la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Toutefois un apport exogène des ERO, une surproduction endogène des ERO (comme dans le vieillissement ou l'athérosclérose) ou une défaillance des systèmes antioxydants (comme chez les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs), conduisent au déséquilibre de la balance en faveur des pro-oxydants. En revanche, dans certaines situations pathologiques (cancer), la production d'ERO est plus importante et prolongée, et la réponse anti-oxydante insuffisante. Le déséquilibre est durable. Cette rupture de l'homéostasie rédox peut avoir plusieurs origines : stress d'origine exogène (agents environnementaux pro-oxydants), intoxication aux métaux lourds, irradiations, carence en antioxydants apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques (Migdal et Serres, 2011), pouvant induire des dommages moléculaires et cellulaires. Les lipides et l'ADN sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (Goudable et Favier, 1997). Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies. Cependant, depuis plusieurs années, la production contrôlée de radicaux apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule (Migdal et Serres, 2011).

IV.4.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont des espèces chimiques : molécules, morceaux de molécules ou simples atomes, possédant un électron célibataire (ou plusieurs) sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité, donc une demi vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbite en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Migdal et Serres, 2011).

Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux super-oxydes $O_2^{\bullet-}$ et hydroxyles OH^{\bullet} , mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et le peroxydinitrite ($ONOO^-$) (Goudable et Favier, 1997).

En plus de ces espèces réactives directement dérivées de l'oxygène, des composés radicalaires peuvent être formés par action du radical hydroxyle sur différents composés en particulier les lipides, c'est la peroxydation lipidique. Cette réaction, initiée par un radical hydroxyle, va se propager en chaîne pour atteindre de nombreuses molécules lipidiques insaturées au sein de la membrane cellulaire et dans les lipoprotéines de type LDL, générant des radicaux peroxydes, des peroxydes et des aldéhydes. Leurs cibles sont nombreuses, elles correspondent à l'ensemble de l'organisme, c'est pourquoi les radicaux libres sont impliqués dans de très nombreuses pathologies (Goudable et Favier, 1997).

IV.4.3. Origine des ERO

L'oxygène est indispensable à la production d'énergie chez les plantes, les animaux et les bactéries. Cette production d'énergie (sous forme d'ATP) appelée phosphorylation oxydative se fait par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons présentes dans la membrane interne des mitochondries. Le métabolisme normal donne naissance à des intermédiaires potentiellement réduits, appelés radicaux primaires ou espèces réactives de l'oxygène, car ces entités radicalaires et moléculaires sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Ainsi, l'oxygène consommé au niveau mitochondrial est transformé en radicaux superoxydes $O_2^{\bullet-}$ lors de la réduction électronique de l'oxygène. La production des radicaux superoxydes est régulée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent leur dismutation en peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 . Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas en soi un radical mais une molécule, il est lui-même toxique et capable de donner naissance à la plus délétère des espèces radicalaires du stress oxydant, le radical hydroxyle (Migdal et Serres, 2011).

IV.4.4. Effets délétères des ERO

Toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont particulièrement affectées par les radicaux libres, entraînant la très grande réactivité de ces espèces chimiques vis-à-vis des lipides, des protéines et de l'ADN. C'est pourquoi les effets des radicaux libres sont retrouvés dans tout l'organisme et contribuent également à la pathogenèse d'un grand nombre de maladies qui possèdent un caractère radicalaire. L'oxydation des lipides est un facteur favorisant la survenue de maladies dégénératives (diabète sucré, maladies cardiaques, neurodégénératives et pathologies articulaires) tandis que celle de l'ADN se retrouve dans diverses étapes qui conduisent au développement de cancers et au vieillissement (Migdal et Serres, 2011).

IV.4.5. Les antioxydants

Ce sont des substances qui, lorsqu'elles sont présentes à une concentration faible par rapport à un substrat oxydable, retardent de façon significative ou empêchent l'oxydation du dit substrat (Halliwell, 1999). Les antioxydants primaires, qui sont pour la plupart des enzymes, limitent la production des espèces réactives de l'oxygène. Les antioxydants secondaires, qui piègent les ERO sous une forme peu réactive, ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation comme les oligoéléments, la glutathion réduite, l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C.

Les autres sources d'antioxydants exogènes sont les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, lignanes, stilbènes) qui réagissent rapidement avec les radicaux libres, notamment les peroxydes en donnant un radical phénoxy incapable de propager la réaction radicalaire (Stevenson et Hurt, 2007). Les caroténoïdes dont le bêta-carotène est le plus connu sont des précurseurs de la vitamine A et des puissants neutraliseurs des ERO (Ojima et al., 1993).

L'activité anti-oxydante des saponines a été démontrée dans plusieurs publications. Les saponines du ginseng vietnamien (*Panax vietnamensis*, Araliaceae) présentent une action anti-radicalaire à la dose de 0.05-0.5 mg/ml in vivo et in vitro (Huong et al., 1998).

L'alpha-hederin, l'hederasaponin-C, l'hederacolchisides-E et F isolés de *Hedera helix* présentent une puissante activité anti-oxydante totale (Gülcin et al., 2004). Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'émulsion de l'acide linoléique, des quatre composés était de 94, 86, 88 et 75 %, respectivement. L'acide arjunolique possède un rôle protecteur contre la toxicité oxydative du tissu cérébral induite par l'arsenic par un traitement avec l'acide arjunolique à la dose de 20 mg/kg par poids du corps durant 4 jours. Les saponines extraites des racines de *Camellia sinensis* (Thé) ont présenté une activité anti-radicalaire et interviennent directement dans l'inhibition de l'inflammation et la promotion des tumeurs (Sur et al., 2001). Amzal (2008) a démontré l'effet protecteur des saponines d'*Argania spinosa* vis-à-vis de l'hémolyse induite par les radicaux et leur capacité à potentialiser l'effet antioxydant de la vitamine E, d'autre part, les extraits de saponines d'*A. spinosa* peuvent prévenir l'oxydation des protéines ou celle d'une émulsion lipido-protéique.

IV.5. Résistances aux antibiotiques

Peu de temps après l'utilisation des agents antibactériens en clinique pratique, une résistance a été signalée chez au moins un agent pathogène bactérien. En 1940, juste après la découverte de la pénicilline, une substance naturelle générée par un champignon, et avant même que son utilisation soit autorisée, [Abraham et Chain \(1940\)](#) avaient mis en évidence l'existence de résistance à cet antibiotique chez *Escherichia coli* par production de bêta-lactamases. Parce que les premiers antibiotiques, ont tous été identifiés ou dérivés de produits naturels, les déterminants de la résistance s'étaient déjà accumulés dans les environnements d'où provenaient ces agents ([Bush, 2014](#)). Il s'agit de résistance naturelle aux antibiotiques.

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère qui touche toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre. Cette résistance délimite le spectre d'action des antibiotiques. Elle est stable et transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien). L'absence ou la réduction de sensibilité à un antibiotique peut être due à un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne (par exemple, la faible affinité de l'acide nalidixique pour la gyrase des entérocoques), une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne (impermeabilité de la membrane externe des bactéries gram négatives aux glycopeptides comme la vancomycine) ([Muylaert et Mainil, 2012](#)).

A côté de la résistance naturelle existe aussi des **résistances acquises** ; il s'agit d'un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. La résistance acquise est moins stable. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes. On décrit deux phénomènes majeures à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. En outre, certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène, comme par exemple les événements conduisant à l'élargissement du spectre des bêta-lactamases ou qui leur confèrent une résistance aux inhibiteurs de bêta-lactamases ([Guardabassi et Courvalin, 2006](#)).

IV.6. Potentiel antimicrobien des substances naturelles

Acides phénoliques et polyphénols simples

L'acide caféique, contenu dans les herbes communes comme l'estragon et le thym, est très actif contre les bactéries, les virus et les champignons. Le catéchol et le pyrogallol, phénols hydroxylés, contenant deux et trois groupes OH respectivement, sont très toxiques aux micro-organismes. On pense que le (s) site (s) et le nombre de groupes hydroxyles sur le groupe phénol sont liés à leur toxicité relative pour les micro-organismes, avec des preuves qu'une hydroxylation accrue entraîne une augmentation de la toxicité. De plus, certains auteurs ont constaté que les phénols plus fortement oxydés sont plus inhibiteurs (Ionela et Ion, 2007).

Quinones

En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connues pour se complexer de manière irréversible avec des acides aminés nucléophiles dans les protéines, conduisant souvent à leur inactivation et à la perte de leur fonction. C'est pour cette raison que les effets antimicrobiens potentiels des quinones sont remarquables car les cibles probables dans la cellule microbienne sont exposées en surface (les adhésines, les polypeptides de la paroi cellulaire et les enzymes liées à la membrane). L'hypericine, une anthraquinone du millepertuis (*Hypericum perforatum*), a reçu beaucoup d'attention ces derniers temps en tant qu'antidépresseur et antimicrobien (Ionela et Ion, 2007).

Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbiennes et se sont révélés avoir des propriétés antimicrobiennes in vitro contre un large éventail de micro-organismes. Leur activité est probablement due à leur capacité à se complexer avec des protéines extracellulaires des parois bactériennes. Les catéchines sont des flavonoïdes présents dans les thés verts qui exercent une activité antimicrobienne. Ces composés inhibent in vitro *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Shigella* et d'autres bactéries et micro-organismes (Ionela et Ion, 2007).

Tanins

De nombreuses activités physiologiques telles que la stimulation des cellules phagocytaires, l'activité tumorale médiée par l'hôte et un large éventail d'actions anti-infectieuses, ont été attribuées aux tanins. Ainsi, leur mode d'action antimicrobienne, peut être lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport de la paroi

cellulaire, etc. Scalbert a passé en revue les propriétés antimicrobiennes des tanins en 1991 et il a énuméré 33 études qui avaient documenté les activités inhibitrices des tanins. Selon ces études, les tanins peuvent être toxiques pour les champignons filamenteux, les levures et les bactéries (Ionela et Ion, 2007).

Huiles essentielles et terpénoïdes

Les terpènes ou terpénoïdes sont actifs contre les bactéries, les champignons, les virus et les protozoaires. En 1977, il a été signalé que 60 % des dérivés des huiles essentielles examinés inhibaient les champignons tandis que 30 % inhibaient les bactéries. Un terpénoïde isolé de la fraction soluble dans l'éthanol du trèfle violet des Prairies, appelé pétalostémumol, a montré une excellente activité contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* et une moindre activité contre les bactéries gram négatives ainsi que contre *Candida albicans*. Deux diterpènes isolés par Batista et al (1994) se sont révélés très actifs; ils ont bien fonctionné contre *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida spp.*

Saponines

Plusieurs publications ont rapporté l'activité antibactérienne des saponines (Killeen et al., 1998). Il a été démontré que trois saponines 5 β -spirostan-3 β -ol extractibles au butanol ont une activité antimicrobienne sur les organismes procaryotes et eucaryotes, mais uniquement à de faibles densités cellulaires. Les saponines n'ont pas inhibé la croissance microbienne des populations denses (Killeen et al., 1998). Quatre saponines nudicaucins A, B et C et guaïacine D extraites de *Hedyotis nudicaulis* ont montré une activité antimicrobienne contre *Bacillus subtilis* (Konishi et al., 1998). Jujubogénine, une saponine extraite de *Colubrina retusa* possède une activité antimicrobienne contre *Mycobacterium intracellulare* à une CMI de 10 ug/ml (ElSohly et al., 1999). Iorizzi et al (2001) ont isolé trois nouvelles saponines de furostanol ainsi que sept saponines connues des graines de *Capsicum annuum*. Les saponines ont montré une inhibition de croissance faible ou nulle contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (MIC > 1000 ug/ml).

Partie II.

Matériels et méthodes

I. Enquête ethnobotanique

I.1. Zones d'enquête

L'enquête ethnobotanique a été réalisée auprès de la population berbère d'Algérie qui a une longue tradition médicale et un savoir faire traditionnel à base de plantes médicinales. Cet héritage, à la fois amazigh et musulman a suscité notre curiosité, et l'inventaire de ce savoir empirique algérien, qui a résisté à l'épreuve du temps et que nous essayerons de revitaliser et de préserver, a été effectué en collaboration avec les populations locales vivantes toujours au contact du milieu naturel (guérisseurs, herboristes, tradipraticiens et mères de familles, etc) : Les Chenouis, qui occupent le versant ouest de l'atlas tellien, les Kabyles, qui occupent une partie significative de l'Atlas tellien du nord de l'Algérie et notamment les chaînes de Djurdjura, des Bibans et des Babors. Les Chaouis, occupant une importante chaîne de l'Atlas Saharien : les Aurès. Les Mozabites dans la vallée du M'Zab avec comme centre principale la ville de Ghardaïa.

Des stations représentatives ont été prises comme zones d'enquêtes et de prélèvements des espèces végétales (Tableau 7 et Figure 5) :

Tableau 7 : Situation géographique des stations de l'enquête ethnobotanique.

Station	Wilaya	Secteur (Quézel et Santa, 1962)	Latitude	Longitude
Ain El Hammam	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	36°34'21"N	4°16'39"E
Ouaguenoun	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	36°45'35"N	4°10'51"E
Boghni	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	36°30'26"N	3°58'32"E
Yakouren	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	36°44'17"N	4°28'32"E
Tigzirt	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	36°51'54"N	4°08'18"E
Beni Amrane	Boumerdes	Secteur Kabyle et Numidien	36°39'42"N	3°34'26"E
Tijelabin	Boumerdes	Secteur Kabyle et Numidien	36°42'27"N	3°30'03"E
Dellys	Boumerdes	Secteur Kabyle et Numidien	36°53'53"N	3°53'46"E
M'Chedallah	Bouira	Secteur Kabyle et Numidien	36°21'51"N	4°15'26"E
El Asnam	Bouira	Secteur Kabyle et Numidien	36°21'26"N	4°00'43"E
Ighil Ali	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	36°17'56"N	4°30'37"E
Barbacha	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	36°33'46"N	4°56'23"E
Ouzellaguen	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	36°33'05"N	4°34'36"E
Kherrata	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	36°30'15"N	5°15'34"E
Cherchal	Tipaza	Secteur algérois	36°35'20"N	2°13'23"E
Merouana	Batna	Secteur des hauts plateaux	35°37'46"N	5°56'09"E
Ghardaïa	Ghardaïa	Secteur du Sahara septentrional	32°30'15"N	3°38'43"E

Les secteurs correspondent à des ensembles phytogéographiques distincts selon la division de [Quézel et Santa \(1962\)](#).

Le secteur kabyle et numidien, et le secteur algérois sont constitués par une succession de massifs montagneux, côtiers et sublittoraux, et de plaines. Le climat dans cette zone est typiquement méditerranéen avec des étés chauds et secs mais avec des hivers doux et pluvieux.

Merouana, surnommé perle de Belezma, est situé dans les montagnes des Aurès, dont le climat est caractérisé par des hivers très froids et des étés très chauds.

La région de Ghardaïa est constituée par un plateau qui se nomme « Chebka », traversé du Nord-ouest vers le Sud-est par Oued M'Zab. L'aridité est très importante à cause des

températures élevées en été, des précipitations faibles, et de l'évaporation très importante due à la sécheresse de l'air.

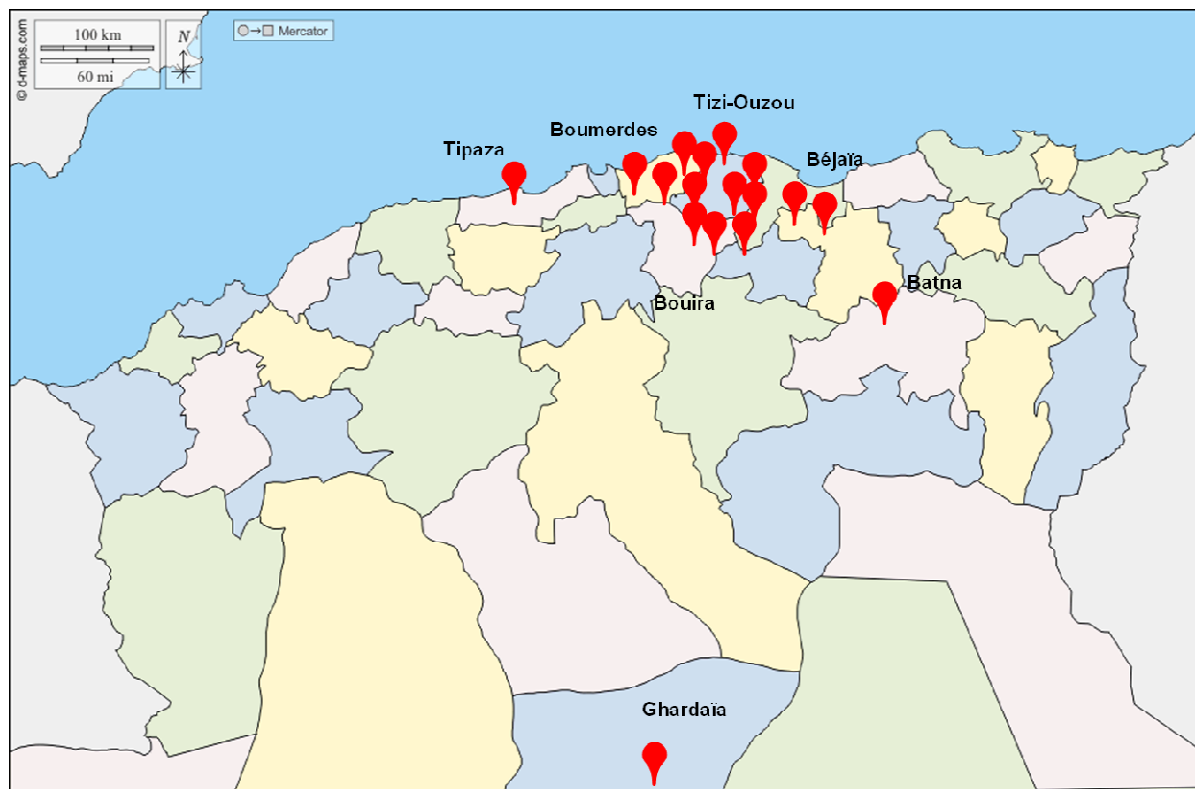


Figure 5 : Situation géographique des stations de l'enquête ethnobotanique.

Les données bioclimatiques et les groupements végétaux des différentes stations sont fournies en annexe (Tableau 1 et figure 1).

I.2. Méthodes d'enquête

Notre enquête est effectuée selon la même approche utilisée par l'ACCT (Agence de Coopération Culturelle et Technique) sous la direction de E. Adjanohoun et de L. Ake Assi, qui a porté sur 21 pays. Ces études ont contribué à alimenter une banque de données de médecine traditionnelle et pharmacopée connues sous l'appellation de PHARMEL. Cette base de données comprend près de 12 000 recettes faisant intervenir plus de 2 700 espèces de plantes issues de 22 pays essentiellement africains (Adjanohoun et al, 1989). Nous nous sommes inspiré également des études ethnobotaniques menées au Maghreb par Le Floc'h (1983), Boukef (1986) et Bellakhdar (1997). Dans cette étude, un échantillonnage au hasard ou aléatoire a été adapté.

Dans l'ensemble, cette enquête ethnobotanique a consisté en :

- L'inventaire des plantes médicinales sur la base des enquêtes ethnobotaniques et ethno pharmacologiques auprès de la population berbère d'Algérie (herboristes, individus vivants au contact avec les plantes médicinales, tradipraticiens de santé, ou autres détenteurs de savoir traditionnel). Une liste des plantes à propriétés thérapeutiques, couramment utilisées traditionnellement a été établie.
- Collecte du maximum d'informations, de précisions et de divers éclaircissements sur les usages thérapeutiques des espèces recensées : parties utilisées, modes de préparation, indications thérapeutiques, posologies et voies d'administration.
- Des reconnaissances sur terrain des espèces végétales, ainsi qu'une campagne de récolte de plantes désignées par les tradipraticiens, ont été effectuées en compagnie des informateurs, dans différents milieux écologiques, en vue de leur sélection. Une étude botanique a été effectuée pour déterminer et identifier les espèces grâce à la consultation de flores ([Quézel et Santa, 1962, 1963](#) ; [Ozenda, 2004](#)).
- A la suite de toutes les enquêtes, nous avons effectué une recherche bibliographique pour chaque espèce de plante.

Collecte des données par les enquêteurs

La collecte des données a été effectuée par les équipes des laboratoires de Botanique médicale et Cryptogamie d'Alger et de Tizi Ouzou, incluant les étudiants internes en pharmacie, les résidents en Botanique médicale, ainsi que les ingénieurs de laboratoire. Ces enquêteurs ont été formés sur la méthodologie de l'enquête.

Nom vernaculaire retenu

Lors de l'enquête ethnobotanique, nous avons retenu le nom vernaculaire le plus courant pour chaque plante et dans chaque région qui peut être le nom berbère, arabe, kabyle, M'zab, etc.

I.3. Outil d'enquête

Cette enquête a été menée sur la base d'un questionnaire précis complet, s'inspirant du canevas standardisé PHARMEL et portant des rubriques principales sur :

- L'informateur.
- Les caractéristiques du matériel végétal utilisé.
- Les modes de préparation et d'administration.

- Les usages thérapeutiques et traditionnels.

FICHE DE COLLECTES DES DONNEES	
1- IDENTIFICATION	
Collecteur	Nom <input style="width: 150px;" type="text"/> Prénom <input style="width: 150px;" type="text"/>
Numéro de fiche	<input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> Date <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/>
Prescripteur	Nom <input style="width: 150px;" type="text"/> Prénom <input style="width: 150px;" type="text"/> Age <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/>
Qualité	<input style="width: 250px;" type="text"/> Adresse <input style="width: 250px;" type="text"/>
2- CARACTERISTIQUES DU MATERIEL VEGETAL	
Nom latin	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Nom vernaculaire	<input style="width: 100px;" type="text"/> Langue ou ethnie <input style="width: 100px;" type="text"/> Nom vulgaire français <input style="width: 100px;" type="text"/>
Pays	<input style="width: 100px;" type="text"/> Localité de l'enquête <input style="width: 300px;" type="text"/>
Numéro échantillon	<input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/> <input style="width: 30px;" type="text"/>
Parties utilisées	<input style="width: 150px;" type="text"/> Lieu de récolte <input style="width: 150px;" type="text"/>
Modalités de récolte	Situation* <input style="width: 50px;" type="text"/> Moment <input style="width: 50px;" type="text"/> Stade* <input style="width: 50px;" type="text"/> Culture <input style="width: 30px;" type="text"/>
Biotope* Formation	<input style="width: 150px;" type="text"/> Stade <input style="width: 150px;" type="text"/>
Formes biologiques*	Aérien <input style="width: 150px;" type="text"/> Souterrain <input style="width: 150px;" type="text"/>
Remarques	<input style="width: 500px;" type="text"/>
3- MODE DE PREPARATION ET D'ADMINISTRATION	
Opération pharmaceutique	Opération <input style="width: 150px;" type="text"/> Véhicule <input style="width: 150px;" type="text"/>
Forme pharmaceutique	De base <input style="width: 150px;" type="text"/> Elaborée <input style="width: 150px;" type="text"/>
Concentration	Quantité de l'organe <input style="width: 50px;" type="text"/> Quantité du véhicule <input style="width: 50px;" type="text"/> Quantité final <input style="width: 30px;" type="text"/>
Dose par prise	Homme <input style="width: 50px;" type="text"/> Femme <input style="width: 50px;" type="text"/> Enfant <input style="width: 30px;" type="text"/>
Fréquence de la prise	Homme <input style="width: 50px;" type="text"/> Femme <input style="width: 50px;" type="text"/> Enfant <input style="width: 30px;" type="text"/>
Période de la prise	<input style="width: 150px;" type="text"/> Durée du traitement <input style="width: 150px;" type="text"/>
Intervalle entre les prises	<input style="width: 150px;" type="text"/>
Mode d'emploi	<input style="width: 100px;" type="text"/> Conservation <input style="width: 100px;" type="text"/> Fréquence de l'usage <input style="width: 30px;" type="text"/>
Drogues associées	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Remarques	<input style="width: 500px;" type="text"/>
4- INDICATIONS THERAPEUTIQUES	
Maladies et symptômes	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Effets physiologiques	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Effets Medicomagiques	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Usages divers	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Incompatibilités	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Effets secondaires	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Médications associées	<input style="width: 500px;" type="text"/>
Remarques	<input style="width: 500px;" type="text"/>

Figure 6 : Fiche de collecte des données

II. Matériel végétal

II.1. Récolte du matériel végétal

L'échantillonnage a été réalisé sur des individus poussant en conditions naturelles, suffisamment espacés, dans leurs milieux écologiques, et par temps sec. Une seule population a été prélevée pour chaque espèce, qui a servi pour une étude botanique, phytochimique et biologique.

A. tenuifolius Cav. a été récoltée, en Mars 2017 et Mars 2018, dans la station de Oued Zergoun, une vallée ou un ravin, délimitée par des banques relativement fortes, qui dans la saison des pluies devient un cours d'eau, dans la Wilaya de Ghardaïa (Sahara septentrional d'Algérie). L'altitude est de 822 mètres. Un spécimen a été conservé au laboratoire de Botanique Médicale de Tizi Ouzou sous la référence At201703.

B. spinosum Gouan a été récoltée en Avril 2019 et Avril 2020, dans les montagnes de Djurdjura, à la station de col de Tirourda, situé entre les Wilayas de Bouira et de Tizi Ouzou (Nord de l'Algérie), à une altitude de 1 750 mètres. Un spécimen a été conservé au laboratoire de Botanique Médicale de Tizi Ouzou sous la référence Bs201904.

Tableau 8 : Situation géographique et données bioclimatiques des stations de prélèvement des échantillons d'*A. tenuifolius* et de *B. spinosum*.

Espèce	Station de prélèvement	Données géographiques			Bioclimat
		Latitude	Longitude	Altitude	
<i>A. tenuifolius</i>	Oued Zergoun (W. Ghardaïa)	32°16'60" N	2°28'60" E	822 m	Aride saharien
<i>B. spinosum</i>	Col de Tirourda (W. Tizi Ouzou)	36°28' 20'7" N	4°20'57'3" E	1 750 m	Subhumide

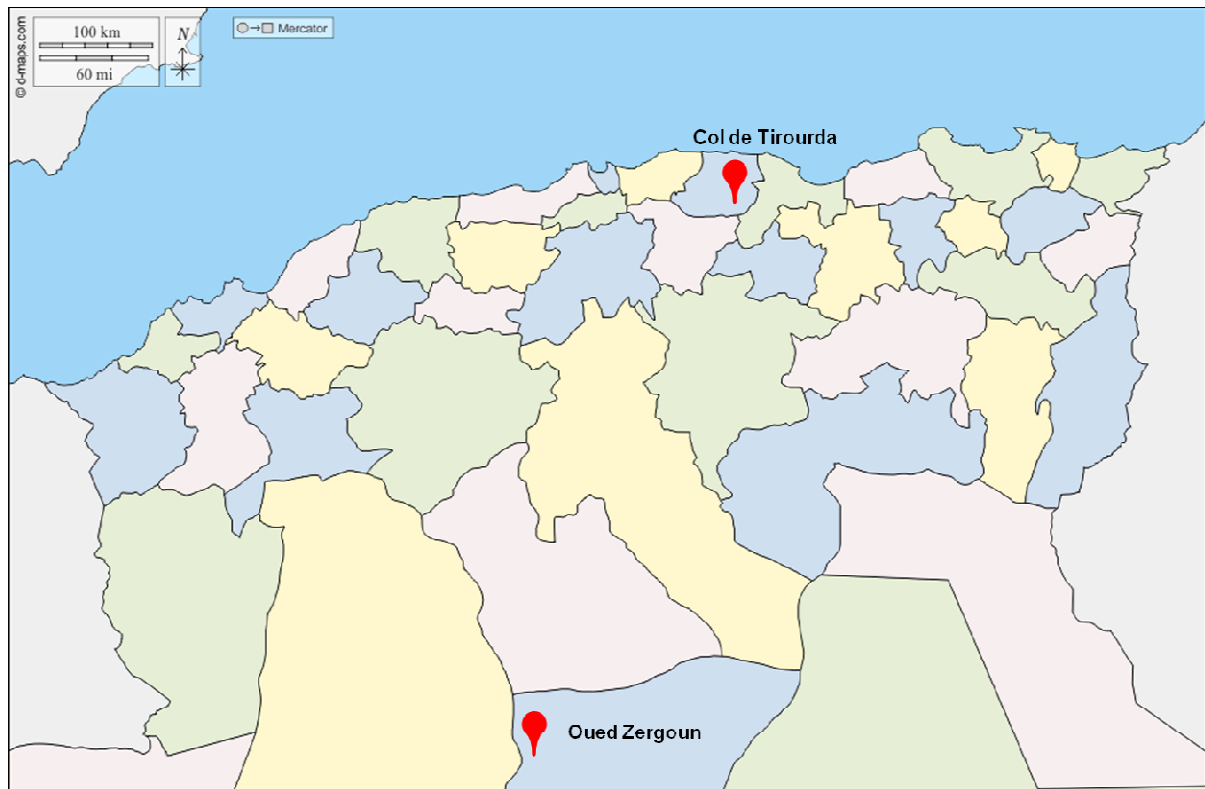


Figure 7 : Localisation des stations de prélèvement des échantillons d'*A. tenuifolius* et de *B. spinosum*.

II.2. Séchage et conservation des plantes récoltées

Les plantes récoltées ont été débarrassées de toutes substances (poussière, parties fanées, insectes, etc). Elles ont été bien étalées dans un endroit ventilé, à l'abri du soleil pour les faire sécher, puis conservées dans des sacs en papier Kraft.

III. Etude botanique

III.1. Etude morphologique

Les observations ont été réalisées sur du matériel végétal frais. Une analyse morphologique détaillée a été réalisée à l'œil nu, et si nécessaire à la loupe binoculaire.

III.2. Etude histo-anatomique

III.2.1. Réactifs

- Hypochlorite de sodium à 12 ° chlorométrique (eau de javel du commerce).
- Acide acétique à 1 %.
- Solution de vert de méthyle.
- Solution de rouge Congo.
- Glycérine.
- Eau distillée.

III.2.2. Matériel et accessoires

- Microplaine.
- Verres de montre.
- Pince.
- Microscope optique « Motic ».
- Microscope à caméra « Motic ».
- Lames et lamelles en verre.
- Lames de rasoir neuves.

III.2.3. Technique utilisée

Une étude histo-anatomique permet de chercher des spécificités morphologiques et anatomiques de la plante. Des coupes histologiques au niveau de la tige, de la racine et de la feuille des deux espèces ont été accomplies par la technique de la double coloration (Vert de Méthyle-Rouge Congo) ([Langeron, 1949](#)) :

- Réaliser des coupes fines et perpendiculaires à l'axe de l'échantillon, à l'aide d'une lame de rasoir neuve et les recueillir dans une microplaque placée dans un verre de montre plein d'eau.
- Placer les coupes dans l'hypochlorite de sodium à 12 ° chlorométrique (eau de javel de commerce) dilué à un cinquième pendant 20 minutes (destruction des structures cytoplasmiques).
- Laver abondamment à l'eau.
- Laver rapidement dans l'acide acétique dilué (mordançage qui a pour but d'augmenter l'affinité des colorants).
- Colorer dans le vert de méthyle pendant 5 minutes.
- Laver abondamment dans l'eau.
- Colorer dans le rouge Congo pendant 3 minutes.
- Laver abondamment à l'eau.
- Choisir et monter les meilleures coupes entre lames et lamelles dans une goutte de glycérine diluée (eau glycinée).
- Observer au microscope optique en choisissant les grossissements adaptés.

Les colorations au Vert de Méthyle-Rouge Congo permettent par leurs affinités différentielles, de colorer les tissus avec des couleurs différentes. Les parois lignifiées sont colorées en vert ou en bleu, les parois cellulosiques sont colorées en rose, les parois cutinisées sont colorées en bleu-vert, les parois subérifiées sont colorées en jaune-vert.

III.3. Etude des poudres

La tendance à commercialiser les plantes en poudre nous a incité à étudier les poudres des différents organes des plantes sélectionnées afin d'avoir un élément de diagnose botanique.

III.3.1. Caractères organoleptiques : nous avons procédé à une analyse de l'aspect, de la couleur, et de l'odeur des poudres.

III.3.2. Caractères microscopiques

III.3.2.1. Réactifs

Réactif de Gazet Du Chatelier.

III.3.2.2. Matériel et accessoires

- Microscope optique « Motic ».
- Microscope à caméra « Motic ».
- Lames et lamelles en verre.
- Pince

III.3.2.3. Technique utilisée

Une petite quantité de poudre a été prélevée et mise sur une lame porte objet. L'échantillon est délayé dans une goutte de réactif de Gazet Du Chatelier, et a été recouvert ensuite avec une lamelle. Après chauffage de la préparation pendant 30 secondes, nous avons procédé à l'observation microscopique au faible grossissement puis au fort grossissement.

III.4. Test de germination des graines

La graine est un organisme vivant qui suit des cycles biologiques selon son milieu d'origine. Certaines semences germent à tout moment, d'autres ont besoin d'une période de dormance.

Un test de germination permet de connaître la faculté germinative (ou taux de germination) d'un lot de semence et de déterminer les conditions expérimentales optimales de germination.

Il est important d'étudier la germination pour contrôler les méthodes de récolte, de conservation et de son adéquation pour chaque espèce, savoir comment ôter la dormance d'une semence, savoir si une multiplication de la variété est à prévoir rapidement, et adapter la quantité de graines à semer en fonction d'un objectif de plants à obtenir.

III.4.1. Essai de germination

Les étapes du protocole de germination sont les suivantes :

1- Recherche bibliographique pour trouver des informations sur les expériences de germination d'*A. tenuifolius* Cav. et de *B. spinosum* Gouan.

2- Essai en conditions calqués sur l'écologie de l'espèce (conditions environnementales telles que la durée du jour et la température pendant la période naturelle de germination). Les conditions suivantes sont suivies pour mener à bien la germination :

- Nombre de semences par test : à adapter selon la quantité totale de semences disponibles.

- Support de l'essai : boîte de Pétri avec papier filtre imbibé d'eau distillée.
- Température : en accord avec les recommandations bibliographiques ou la température dans l'habitat naturel de l'espèce.
- Lumière (photopériode) : les essais sont placés à une période de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.
- Durée de l'essai : établit en fonction de l'espèce (30 jours en moyenne).

IV. Analyse du sol

Les plantes interagissent au cours de leur croissance avec des facteurs environnementales tels que l'eau, la lumière, la température, le sol et les éléments minéraux, qui ont une influence directe ou indirecte sur l'accumulation des métabolites secondaires. Une étude menée par [Haghighi et al \(2012\)](#) sur les effets du stress salin sur les métabolites secondaires de *Plantago ovata* a indiqué une augmentation significative des flavonoïdes totaux et des saponines totales avec l'augmentation de la salinité dans le milieu. Il est évident que la composition chimique et les propriétés du sol ont un fort impact sur les voies métaboliques responsables de l'accumulation des produits naturels associés.

IV.1. Prélèvements du sol

Les prélèvements des échantillons de sol ont été effectués à Oued Zergoun (Ghardaïa) (milieu écologique d'*A. tenuifolius* Cav.) et au col de Tirourda (Tizi Ouzou) (milieu écologique de *B. spinosum*) (Voir tableau 8 et figure 7), selon le guide pratique de prélèvement de terre de FERTIAL (Société des fertilisants d'Algérie) :

Prélever l'échantillon de sol dans une zone homogène et représentative de la parcelle à étudier.

Matérialiser virtuellement deux diagonales, se coupant au centre de la zone à prélever.

Répartir les 15 prélèvements élémentaires le long de ces diagonales en maintenant une zone régulière entre deux prélèvements élémentaires (par ex : 20 m). Limiter la quantité de terre à prélever (environ 50 g par prélèvement). Réaliser tous les prélèvements à la même profondeur (0-30 cm).

Rassembler les prélèvements élémentaires dans un seau propre pour constituer l'échantillon global.

Retirer les cailloux, les fragments des végétaux frais, la macrofaune éventuelle (vers de terre), mélanger soigneusement l'échantillon global.

Étaler l'échantillon sur une bâche en plastique propre, émietter et homogénéiser soigneusement.

Diviser l'échantillon en 04 parcelles égales, éliminer deux cotés opposés, mélanger les deux cotés restants.

Répéter l'opération jusqu'à obtention du poids de l'échantillon voulu.

Transférer l'échantillon au laboratoire. Reporter immédiatement sur le sac à échantillon le numéro de la feuille de renseignement associé.

IV.2. Méthodes d'analyse du sol

Avant toute analyse, les échantillons de sol ont subi d'abord, un séchage à l'air libre pendant plusieurs jours, ensuite le sol est soumis à un tamisage à travers un tamis de 2 mm de diamètre. Les fractions fines obtenues sont conservées dans des boîtes en plastiques et ont subi des analyses dans le but de définir leurs caractéristiques physico-chimiques.

IV.3. Mesure de la conductivité électrique

La détermination de la salinité du sol est fondée sur le calcul de sa conductivité électrique qui fournit des éléments nécessaires sur la physico-chimie des solutions d'électrolytes extraites du sol. Cette conductivité électrique augmente avec la salinité du sol et permet de juger d'une manière indirecte et globale la concentration en sels solubles.

Mode opératoire

Le rapport entre la quantité du sol et la quantité d'eau nécessaires à la préparation de l'extrait du sol est en général de 1/5.

Préparer dans un bécher 5 g de sol tamisé.

Ajouter 50 ml d'eau distillée.

Laisser reposer pendant 30 minutes, en agitant de temps en temps.

Mesurer la conductivité électrique du surnageant obtenu après centrifugation à l'aide d'un conductimètre ([Mathieu et Pieltain, 2009](#)).

IV.4. Mesure du pH

Le pH est un indicateur de la concentration d'ions hydrogène dans le sol, sa valeur dépend des propriétés chimiques de l'eau de pluies et d'autres eaux pénétrant dans le sol, des activités des organismes (plantes, micro-organismes) vivant dans le sol, et donne donc des indices sur le climat, la végétation et les conditions hydrauliques présentes lors de la formation du sol.

Mode opératoire

Préparer dans un bécher 20 g de sol tamisé.

Ajouter 50 ml d'eau distillée.

Laisser reposer pendant 30 minutes, en agitant de temps en temps.

Mesurer le pH du surnageant obtenu après centrifugation à l'aide d'un pHmètre (Mathieu et Pieltain, 2009).

IV.5. Dosage du carbone organique par la méthode Anne

La détermination du carbone organique total permet d'évaluer la quantité de la matière organique présente dans l'échantillon de sol et de sédiments. Cette matière organique constitue un réservoir de nutriments lentement assimilables par les plantes et amplifie grandement la capacité d'échange cationique du sol.

Mode opératoire

Le carbone organique total dans les sol peut être déterminé par titrage. Une solution de bichromate de potassium est ajoutée à un échantillon en présence d'acide sulfurique. Après la réaction, le dosage de la quantité de bichromate qui n'a pas réagi avec l'échantillon par le sel de Mohr permet d'établir la concentration du carbone organique total.

Mettre une prise d'essai de 0.5 g de terre fine (terre séchée à l'air libre et tamisée à 2 mm) dans une fiole conique de 250 ml.

Ajouter 10 ml de solution de bichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ (0.2 N) et 15 ml d'une solution d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 .

Mettre la fiole sur un bain de sable, après l'apparition de la première goutte de liquide sur la paroi de la fiole, attendre 5 min et retirer la fiole.

Laisser refroidir.

Préparer une dilution de la solution obtenue à 1/100, pour cela, transvaser la solution dans une fiole jaugée de 100 ml et ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée.

Prélever 20 ml de la dilution et la mettre dans un bécher de 400 ml.

Ajouter 200 ml d'eau distillée et 1.5 g de fluorure de sodium NaF.

Ajouter 3 à 4 gouttes de solution de diphénylamine.

Titre l'excès de bichromate de potassium avec le sel de Mohr, le point d'équivalence est visualisé par l'apparition d'une couleur bleue verte.

Préparer un témoin en introduisant dans un erlenmeyer, 10 ml de bichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ (0.2 N) et 15 ml d'une solution d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 . Compléter le titrage tel que décrit précédemment (Aubert, 1978).

Calcul et expression des résultats

Les résultats sont exprimés en %.

Le pourcentage de carbone dans l'échantillon exprimé en pourcentage % est déterminé comme suit :

$$\text{CO\%} = ((Y-X) * 0.615 * 250 * 100) / (1000 * V * P)$$

où

CO% : concentration du carbone organique en pourcentage.

Y : volume de solution de sel de Mohr utilisé pour le témoin (ml).

X : volume de solution de sel de Mohr utilisé pour l'échantillon (ml).

V : volume de la solution titrée (10 ml).

P : poids de l'échantillon titré (0.5 g).

IV.6. Détermination de la matière organique totale

La teneur en matière organique du sol s'obtient généralement à partir de la teneur en carbone organique en prenant comme référence que 58 % du carbone organique de l'humus du sol constitue la matière organique. On estime donc que le rapport matière organique/carbone est à peu près constant et égal à 1.724 (Aubert, 1978).

$$\text{MO\%} = \text{CO\%} * 1.742$$

où

MO% : concentration de la matière organique en pourcentage

IV.7. Dosage de l'azote total par la méthode Kjeldahl

Dans la méthode de Kjeldahl utilisée pour déterminer l'azote total, on procède à la destruction de la matière organique en l'oxydant à ébullition avec l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur (sulfate de cuivre et sulfate de potassium) : le carbone s'élimine sous forme de dioxyde de carbone, l'hydrogène sous forme d'eau et l'azote reste en solution sous forme d'ions ammonium. L'ammoniaque formé est déplacé de sa combinaison en présence d'une quantité de NaOH en excès, distillée et recueilli dans de l'acide borique, puis titré par une solution standard d'acide sulfurique.

Mode opératoire

❖ Minéralisation

Peser 2.5 g de terre fine, sèche, broyée, et tamisée à 0.2 mm et l'introduire dans un matras de Kjeldahl de 500 ml.

Ajouter 20 ml environ d'eau distillée, laisser en contact pendant 30 minutes, et homogénéiser par agitation.

Ajouter 10 g de sulfate de potassium K_2SO_4 , 1 g de sulfate de cuivre $CuSO_4$ et 0.1 g de sélénium.

Ajouter 30 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré.

Porter le matras à la rampe d'attaque, sous hotte bien ventilée, chauffer jusqu'à obtention d'un liquide incolore. L'opération peut demander plusieurs heures.

La matière organique est alors totalement détruite et tout l'azote se trouve à l'état de sulfate d'ammoniaque.

❖ Distillation et dosage

Mettre 20 ml de l'extrait obtenu précédemment dans le flacon de distillation de l'appareil de Buchi.

Ajouter quelques gouttes de rouge de méthyle et neutraliser à la soude à 40 % (apparition d'un précipité d'hydroxyde de cuivre $Cu(OH)_2$ de couleur bleue).

Mettre 20 ml d'acide borique H_3BO_3 contenant l'indicateur mixte dans un erlen et l'installer sous le collecteur du distillat.

Mettre en marche la distillation jusqu'à obtention d'un volume du distillat de l'ordre de 10 à 20 ml.

Titrer avec l'acide sulfurique H_2SO_4 0.05 N jusqu'au virage du vert au rose.

Un témoin de 20 ml d'acide borique H_3BO_3 est titré avec l'acide sulfurique H_2SO_4 à 0.05 N jusqu'au virage du vert au rose (Aubert, 1978).

❖ Calcul et expression des résultats

Les résultats sont exprimés en %.

Le taux de l'azote total dans l'échantillon est déterminé comme suit :

$$N \% = (V1)*T*0.014*100/M$$

Où

V1 : volume d'acide H₂SO₄ utilisé pour le dosage de l'échantillon (ml)

T : titre de l'acide sulfurique (0,05 Mol/l)

M : poids de l'échantillon titré.

IV.8. Dosage du calcaire total par la méthode de calcimètre de Bernard

Le calcaire total groupe les carbonates insolubles des sols, ceux du calcium et du magnésium. La présence de calcaire confère au sol des caractéristiques spécifiques en terme de comportement physique et influe son activité biologique. Sa quantité dans le sol peut être déterminée par l'action d'un acide fort, l'acide chlorhydrique, les carbonates se décomposent et il en résulte un dégagement de gaz carbonique. La méthode au calcimètre de Bernard permet la mesure du volume de CO₂ dégagé, recueilli dans un tube gradué.

Mode opératoire

Utiliser une fiole pour calcimètre de Bernard munie d'une extension latérale en doigt.

Introduire dans le doigt 6 ml d'acide chlorhydrique HCl.

Introduire une prise d'essai de sol de 0.5 g finement broyée dans la fiole.

Fermer la fiole en la raccordant au calcimètre.

Avant de fermer le robinet du calcimètre, s'assurer que le niveau du liquide arrive à la hauteur repère zéro.

Fermer le robinet, puis incliner la fiole pour faire couler l'acide sur l'échantillon de sol.

Si la terre contient du carbonate de calcium, il se produit un dégagement rapide de gaz carbonique refoulant l'eau dans la colonne du calcimètre.

Abaisser ensuite l'ampoule du calcimètre jusqu'à ce que le niveau de l'eau dans cette dernière soit dans un même plan horizontal que celui de l'eau située dans la colonne. Lire le volume de gaz carbonique (Aubert, 1978).

Calcul et expression des résultats

La teneur en carbonates, exprimée en %, est donnée par la formule suivante :

$$CaCO_3 \% = (P*V/p*v)*100$$

Où

P : poids de CaCO_3 utilisé pour l'étalonnage

V : volume de CO_2 dégagé par CaCO_3

p : poids de la prise d'essai de sol

v : volume de CO_2 dégagé par le poids d'échantillon de sol

IV.9. Analyse granulométrique

Les particules minérales constituant un sol peuvent être isolées, triées et classées suivant leur taille. C'est le principe de l'analyse granulométrique qui porte sur la seule fraction de terre fine du sol, soit les éléments de taille inférieure à 2 mm. Les éléments grossiers n'entrent pas dans la composition granulométrique d'un sol cultivée. Cette analyse permet de classer le sol dans une classe de texture, qui définit certains paramètres de comportement physiques, de rétention en eau utile, de capacité à stocker les éléments fertilisants, et de risques de pertes par lessivages, etc.

L'analyse granulométrique est basée sur la destruction de la matière organique du sol par une attaque à l'eau oxygénée, d'abord à froid, puis en chauffant au bain de sable, puis dispersions des ions enrobant les particules par l'hexamétaphosphate de sodium sous agitation.

Les éléments les plus fins : argiles ($\emptyset < 2 \mu\text{m}$) et limons fins ($2 \mu\text{m} < \emptyset < 20 \mu\text{m}$) sont prélevés à la pipette Robinson au cours de la sédimentation suivant la loi de Stokes ; alors que les limons grossiers ($20 \mu\text{m} < \emptyset < 50 \mu\text{m}$), les sables fins ($50 \mu\text{m} < \emptyset < 200 \mu\text{m}$) et les sables grossiers ($200 \mu\text{m} < \emptyset < 2000 \mu\text{m}$) sont séparés par tamisage. La classe texturale du sol a été définie à l'aide du triangle de textures USDA (United States Department Of Agriculture).

Mode opératoire

L'analyse granulométrique passe par plusieurs étapes ([Mathieu et Pielain, 2009](#)) :

❖ Destruction de la matière organique

Une prise d'essai de 10 g de sol est introduite dans un bécher de 600 ml.

Ajouter 50 ml d'eau oxygénée à 20 volumes, laisser reposer une nuit.

Porter au bain de sable, couvrir le bécher d'un verre de montre et laisser évaporer en évitant l'ébullition de l'échantillon.

❖ Mise en suspension

Transvaser la solution obtenue précédemment dans la fiole d'agitation.

Ajouter 40 ml de la solution dispersante d'hexamétaphosphate de sodium, ajouter 1 ml d'ammoniaque pur, agiter pendant 4 h à l'agitateur rotatif.

Transvaser la suspension dans une éprouvette de 1 l et compléter le volume avec l'eau distillée.

Déposer l'éprouvette dans un lieu stable à température constante.

Retourner les éprouvettes pour obtenir un mélange total.

Préparer un témoin en plaçant un thermomètre dans une éprouvette contenant 40 ml d'hexamétaphosphate de sodium et compléter le volume avec de l'eau distillée.

❖ Prélèvements des différentes fractions granulométriques***Prélèvement d'argile + limon fin***

Commencer par le prélèvement de cette fraction.

Déterminer le temps de sédimentation selon la température lue sur le thermomètre du témoin.

Prélever avec une pipette Robinson à 10 cm de profondeur après 4 minutes et 48 secondes (la température est de 20 °C).

Récupérer le contenu de la pipette dans une capsule tarée et sécher à l'étuve à 105°C.

Prélèvements d'argile

Agiter énergiquement le contenu de l'éprouvette.

Déterminer le temps de sédimentation selon la température.

Prélever avec une pipette de Robinson à 10 cm de profondeur après 8 heures de sédimentation à 20 °C.

Le volume prélevé est transféré dans une capsule tarée et séchée à l'étuve.

Détermination de sables fins et grossiers

Remettre en suspension le contenu de l'éprouvette par agitation.

Verser le contenu de l'éprouvette sur deux tamis superposés, le premier à 0.2 mm et le second de 0.05 mm.

Les sables retenus sur le tamis de 0.2 mm sont les sables grossiers, et les sables fins sur le tamis de 0.05 mm.

Détermination de l'argile + limon fin + limon grossier

La fraction inférieure à 0.05 mm récupérée après tamisage est ajustée au volume de 1000 ml à l'eau distillée.

Agiter l'éprouvette et prélever rapidement cette fraction à la pipette de Robinson.

Récupérer le contenu de la pipette dans une capsule tarée, sécher à l'étuve et peser.

V.1. Screening phytochimique

Il s'agit de caractériser les différents groupes chimiques qualitativement, sur les poudres préparées à partir de chacun des organes des plantes étudiées. Le principe est basé soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés en utilisant des réactions de coloration (conjugaison ou insaturation dans une molécule) (Faugeras et Lavenir, 1965 ; Farnsworth, 1966 ; Bruneton, 1999, 2016 ; Paris et Moyses, 1976).

V.1.1. Caractérisation des alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est établie par la précipitation de sels et la révélation à l'aide de réactifs généraux des alcaloïdes.

Extraction rapide par un solvant apolaire en milieu alcalin

- Dans une fiole conique, placer 2 g environ de poudre végétale.
- Humecter la poudre avec l'ammoniaque concentrée NH_4OH , dilué au 1/10.
- Laisser macérer environ 15 minutes.
- Ajouter 10 à 15 ml de dichlorométhane CH_2Cl_2 (ou chloroforme).
- Agiter, filtrer sur papier filtre, en recueillant le liquide dans une ampoule à décantation.
- Extraire les alcaloïdes de la solution organique en agitant celle-ci avec de l'acide chlorhydrique concentré HCl , dilué au 1/10 (environ 3 à 4 ml).
- Vérifier le PH.
- Récupérer la phase acide.

Identification

Partager le filtrat entre 3 tubes :

- Dans le 1^o tube, ajouter quelques gouttes de réactif de MAYER (Iode et mercure) : il se forme un précipité jaunâtre.
- Dans le 2^o tube, ajouter quelques gouttes de réactifs de BOUCHARDAT (Iode) : il se forme un précipité brun.
- Dans le 3^o tube, ajouter quelques gouttes de réactif de DRANGENDORFF (Iode et bismuth) : il se forme un précipité orangé.

V.1.2. Caractérisation des tanins

La présence des tanins galliques et catéchiques a été mise en évidence à l'aide de perchlorure ferrique FeCl_3 .

Extraction

Introduire 0.2 g de poudre dans 10 ml d'eau et porter à ébullition pendant 2 minutes. Ensuite filtrer.

Réaction au FeCl_3

Recueillir 1 ml du filtrat dans un tube à essai, ajouter quelques gouttes de chlorure ferrique FeCl_3 à 10 %.

Observer le précipité noir vert qui se développe.

Les tanins catéchiques, non hydrolysables, ou condensés, sont mis en évidence par la méthode suivante :

- Dans un tube à essai, introduire 5 ml de filtrat (préparé précédemment).
- Ajouter 2 ml du réactif de Stiasny (formolchlorhydrique).
- Placer le tube à essai 10 à 15 minutes au bain marie (90°C).
- Observer l'apparition d'un précipité.

Si aucun précipité n'apparait, alors que la coloration lors de l'identification au trichlorure ferrique FeCl_3 est positive, nous pouvons conclure alors que la drogue ne renferme que des tanins galliques.

A l'inverse, s'il y'a apparition d'un précipité, nous sommes en présence de tanins catéchiques.

Les tanins galliques, hydrolysables, sont confirmés par la méthode suivante :

- Filtrer la solution avec le réactif de Stiasny.
- Neutraliser le filtrat par ajout d'acétate de sodium et ajouter quelques gouttes de trichlorure ferrique FeCl_3 .
- Observer l'apparition d'un précipité noir.

S'il se forme un précipité noir : la drogue renferme en plus les tanins galliques.

Si pas de précipité noir : la drogue ne renferme que des tanins catéchiques.

V.1.3. Caractérisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes, une grande famille de pigments universels et abondamment présents dans les plantes sont mis en évidence par plusieurs tests de caractérisation.

Épuisement du matériel végétal avec l'éthanol

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure.

Test de caractérisation

La réaction à la cyanidine permet la détection des flavonoïdes qui consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml d'acide chlorhydrique HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose à rouge se développe après 3 minutes.

V.1.4. Caractérisation des saponines

Les saponines sont des substances très fréquentes dans les plantes, elles sont caractérisées par leur pouvoir moussant en solution aqueuse qui détermine l'indice de mousse.

- Préparer un décocté à 1% avec 1 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante et maintenir une ébullition légère pendant 15 minutes puis la suspension est filtrée.
- Introduire dans 10 tubes à essais successivement 1 à 10 ml de filtrat en complétant le contenu de chaque tube à 10 ml avec de l'eau.
- Agiter le contenu de chaque tube pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde.
- La hauteur de mousse est mesurée 15 minutes après l'agitation.
- L'indice de mousse (I_m) est calculé à partir du numéro de tube (N) dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm.

$$I_m = 1000/N.$$

V.1.5. Caractérisation des dérivés anthracéniques

Les dérivés anthracéniques sont retrouvés dans les plantes sous forme libre (aglycone) ou combinée (hétérosides anthracéniques). La présence des dérivés anthracéniques est mise en évidence à l'aide de la solution d'ammoniaque NH_4OH dilué à 50 %.

Extrait chloroformique

A 1 g de drogue en poudre, ajouter 10 ml de Chloroforme CHCl_3 et chauffer au bain marie pendant 3 minutes. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml.

Caractérisation : Réaction de Bornträger

Introduire dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique déjà préparé, ajouter 1 ml d'ammoniaque NH_4OH dilué au demi puis agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones.

V.1.6. Caractérisation des Hétérosides cardiotoniques

La présence d'hétérosides cardiotoniques a été mise en évidence à l'aide d'hydroxyde de potassium KOH en présence de réactifs appropriés.

Solution à analyser

Introduire 1 g de poudre dans un tube à essai, ajouter 10 ml d'éthanol à 60° et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, $3\text{H}_2\text{O}$ à 10%. Porter au bain-marie bouillant pendant 10 min, filtrer.

Caractérisation

Agiter le filtrat avec 10 ml de CHCl_3 sans formation d'émulsion. Laisser décanter; soutirer la phase chloroformique et partager entre 3 tubes à essai, dans le :

Tube n°1 : ajouter 1ml de réactif de Baljet

Tube n°2 : ajouter 1ml de réactif de Kedde

Tube n°3 : ajouter 1ml de réactif de Raymond-Marthoud.

Puis introduire dans chaque tube 4 gouttes d'hydroxyde de potassium KOH à 5 % dans l'éthanol fraîchement préparé. En cas de réaction positive, il se développe les colorations suivantes :

Tube n°1 : orangée

Tube n°2 : rouge- violacée

Tube n°3 : violet fugace.

V.1.7. Caractérisation des stérols et triterpènes

La présence des stérols et triterpènes est mis en évidence à l'aide de H_2SO_4 concentré.

Extraction

Un extrait est tout d'abord réalisé à partir d'une macération pendant 24 heures, de 1 g de poudre de l'échantillon dans 20 ml d'éther.

Mise en évidence

Les stérols et triterpènes sont mis en évidence par ajout de 1 ml de chloroforme CHCl_3 au résidu de 10 ml du macéré évaporé.

- La solution obtenue est partagée dans deux tubes à essai, puis 1 à 2 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré sont ajoutés au fond de l'un des tubes, l'autre servira de témoin.
- La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, révèle leur présence.

V.1.8. Caractérisation des coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses.

Mise en évidence

- 1 g d'échantillon de la poudre végétale est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée.

- Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes.

- Puis on ajoute 0,5 ml d'ammoniaque NH_4OH dilué (10%) et on va mettre deux taches sur le papier filtre qui sont examinées sous la lumière ultraviolette.

- La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines.

V.2. Dosage des principales classes chimiques

Le dosage des principales classes chimiques a été faite sur les extraits secs totaux d'*A. tenuifolius* et de *B. spinosum* réalisés aux ultrasons avec l'éthanol aqueux EtOH/ H_2O (75/35), pendant 30 min, cette opération d'extraction a été répétée 03 fois (Voir chapitre VI).

V.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur des composés phénoliques à été déterminée selon le protocole décrit par [Singleton et Rossi \(1965\)](#) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans le milieu réactionnel et donne un maximum d'absorption à 760 nm (Ribéreau-Gayon et Gautheret, 1968).

Mode opératoire

A un volume de 500 μ l d'extrait, a été additionné 2.5 ml de réactif de Folin-ciocalteu dilué à 1/10 . Après 2 minutes d'incubation à l'obscurité, 2 ml de carbonate de sodium (75%) sont ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 760 nm après 15 min d'incubation au bain marie à 50°C et refroidissement direct dans un bain de glace. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 760 nm contre un témoin préparé suivant la même méthode, sauf que l'extrait a été remplacé par le solvant. Toutes les mesures sont répétées 03 fois.

La concentration en polyphénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage réalisée avec le standard étalon d'acide gallique. La gamme étalon a été établit à différentes concentrations d'acide gallique en milieu aqueux : 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 μ g/ml. Les résultats sont exprimés en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme de poudre sèche (μ g EAG/mg de MS).

V.2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux à été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) de Lamaison et carnet (1990), citée par Bahri-Sahloul (2009)

Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (Bahri-Sahloul, 2009). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon et Gautheret, 1968).

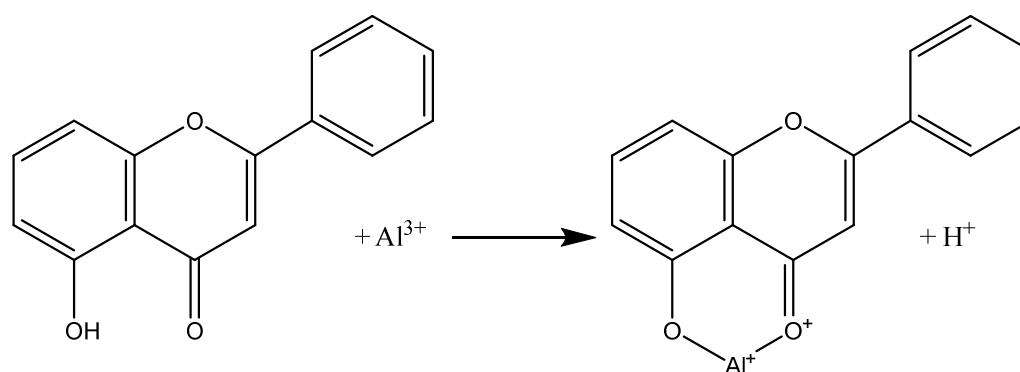


Figure 8 : Réaction du chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau - Gayon et Gautheret, 1968).

Mode opératoire

100 μl de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de la solution méthanolique d' AlCl_3 (0.1 M). Après 10 min d'incubation à l'obscurité, la lecture est faite à 430 nm contre un blanc préparé sans extrait. Toutes les opérations sont répétées 03 fois.

La teneur en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine à différentes concentrations (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EQ/mg}$ de MS).

V.2.3. Dosage des tanins

La détermination de la teneur en tanins (proanthocyanidines) a été déterminée à l'aide d'une méthode spectrophotométrique, conformément à la méthode de Sun et al (1998).

Principe

Les tanins condensés se dépolymérisent en milieu acide, et par réaction avec la vanilline, cette dépolymérisation conduit à la libération des anthocyanidines qui sont des molécules colorées correspondantes aux monomères clivés, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm.

Mode opératoire

1 ml de l'extrait a été additionné à 5 ml d'une solution qui se compose de deux volumes de vanilline à 4% (préparé dans le méthanol) avec un volume de HCl à 37 %. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 500 nm après 20 min d'incubation à l'obscurité, en utilisant le méthanol comme un blanc. Tous les tests ont été réalisés trois fois.

La teneur en tanins a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine à différentes concentrations : 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 $\mu\text{g/ml}$. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de catéchine par milligramme de la matière sèche ($\mu\text{g EC/mg de MS}$).

Les résultats du dosage des composés phénoliques ont été analysés par un logiciel de gestion de bases de données Manitab. 18, en utilisant le test de l'analyse de la variance à un seul facteur (one-way ANOVA), dont le niveau de signification est de 5 %. Ce test nous permet de vérifier si les échantillons sont issus de la même population ou présentent des différences significatives.

VI. Extraction, Isolement, purification et détermination structurale de métabolites secondaires

VI.1. Méthodes chromatographiques

VI.1.1. Méthodes chromatographiques analytiques

VI.1.1.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La CCM, une technique analytique rapide et peu coûteuse, est utilisée pour séparer et déterminer les saponines dans un mélange. Elle est utilisée à chaque étape du protocole de purification par les méthodes chromatographiques pour vérifier la composition des fractions obtenues.

Conditions chromatographiques

Phase stationnaire : des plaques de gel de silice prêtes à l'emploi du commerce ont été utilisées : Plaque de silice CCM (60 Å, F₂₅₄, Silicycle) et Plaque de silice HPTLC (60 Å, F₂₅₄, Merck).

Phase mobile : les systèmes de solvants utilisés sont : CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7.

Révélation : les plaques sont observées sous lampe UV à 254 et 336 nm avant révélation pour détecter les flavonoïdes et d'autres composés chromophores. Le révélateur utilisé sur les plaques de silice est la vanilline sulfurique préparé comme suit : 50 ml de solution de vanilline à 1% dans l'éthanol + 1 ml d'acide sulfurique. Les plaques sont ensuite chauffées à 120°C pendant quelques minutes.

VI.1.1.2. Chromatographie Liquide Haute Pression (HPLC)

C'est la technique chromatographique la plus précise. Dans notre cas, l'HPLC a été utilisée pour contrôler la pureté et l'identité des composés isolés.

Appareil : 1260 Instrument Agilent.

Colonne analytique : C18 column (250 mm × 4.6 mm id, 5 µm; Phenomenex LUNA)

Phase mobile : acide trifluoroacétique aqueux à 0.01 % et acétonitrile en gradient linéaire délivrés à 1 ml/min selon le gradient. Le volume d'injection était de 10 µl à la concentration de 1 mg/ml.

Pompe : quaternary pump Büchi®

Echantillonneur automatique

Un détecteur UV à 201 nm

VI.1.2. Méthodes chromatographiques préparatives

VI.1.2.1. Chromatographie Liquide sous Vide (VLC)

Il s'agit d'une technique de fractionnement « grossière » préliminaire. Elle implique l'utilisation d'une pression réduite pour augmenter le débit d'une phase mobile à travers un petit lit de solvant (Hostettmann et Marston, 1995). C'est une étape qui précède toutes les autres étapes de séparation sophistiquées comme la MPLC, HPLC, etc. En pratique, elle permet l'élimination des sucres et des tanins contenus dans les extraits.

Conditions chromatographiques

VLC en phase normale : Cette étape a pour but d'éliminer les tannins et de faire un premier fractionnement des saponines.

Phase stationnaire : Silice en phase normale (60 Å, 60 - 200 µm, Merck).

Phase mobile : CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7, et 64:40:8.

VLC en phase inverse : Cette étape a pour but d'éliminer les sucres de l'extrait brut.

Phase inverse : Silice en phase inverse, RP-18 Spherical C18 (300 Å, 75 - 200 µm, Silicycle).

Phase mobile : H₂O/MeOH 100:0, 50:50, et 0:100.

VI.1.2.2. Chromatographie flash

La chromatographie Flash est comme la VLC, une chromatographie préparative rapide à moyenne pression. Elle permet un fractionnement grossier des extraits issus de VLC ou de chromatographie d'exclusion stérique.

Conditions chromatographiques

Matériel : appareil CombiFlash RETRIEVE.

Phase stationnaire : Silice en phase normale (colonne de gel de silice 15-40 µm, 12 g, RediSep).

Phase mobile : CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, et 60:32:7.

VI.1.2.3. Chromatographie d'exclusion stérique

La chromatographie sur gel perméable ou chromatographie d'exclusion stérique est une technique qui permet la séparation des molécules en fonction de leur taille (masse moléculaire) et de leur forme (structure spatiale) (Hostettmann et Marston, 1995). Les molécules sont éluées dans l'ordre de leurs masses moléculaires décroissantes. Dans notre cas, l'ordre de l'élution est le suivant : Tannins - Saponines – Flavonoïdes.

Conditions chromatographiques

Phase stationnaire : Sephadex LH-20.

Phase mobile : MeOH 100 %.

VI.1.2.4. Chromatographie Liquide Moyenne Pression (MPLC)

C'est une technique chromatographique plus précise pour purifier des composés en raison de la dimension très réduite des particules du gel de silice. Les séparations sont rapides, requièrent moins de temps que les autres chromatographies à colonne ouverte.

Conditions chromatographiques

Matériel

Colonnes de séparation (Büchi) : Pré-colonne : 110 x 15 mm,

Colonne : 460 x 15 mm, 230 x 15 mm.

Pompe pour l'appareillage MPLC en phase normale : HPLC pump 426 (Alltech).

Pompe pour l'appareillage en phase inverse : Pump Manager C-605, PumpModule C-601 (Büchi).

Collecteur de fractions : C-600 (Büchi).

Phase stationnaire

Silice en phase normale (60 Å, 15–40 µm, Merck).

Silice en phase inverse, RP -18 Spherical C18 (300 Å, 75–200 µm, Silicycle).

Phase mobile

MPLC en phase normale : CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7 et 64:40:8.

MPLC en phase inverse : MeOH/H₂O 30/70 → 100:0 (gradient linéaire).

VI.2. Détermination structurale

VI.2.1. Hydrolyse acide et analyse par Chromatographie à Phase Gazeuse (CPG)

La configuration absolue D ou L des sucres peut être déterminée par chromatographie en phase gazeuse de dérivés silylés des sucres après hydrolyse acide puis dérivatisation par comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux observés pour les dérivés d'échantillons témoins :

- Chaque composé (3 mg) a été hydrolysé avec l'acide trifluoroacétique aqueux CF₃COOH₂N (5 mL), pendant 3 h, à 95°C.
- L'hydrolysate est ensuite partagé entre l'eau et le chlorure de méthylène CH₂Cl₂ à plusieurs reprises (3 X 5 ml)
- La phase aqueuse a été évaporée à plusieurs reprises à sec, avec du méthanol jusqu'à neutralité, puis analysé sur CCM (CHCl₃/MeOH/H₂O 8:5:1) par comparaison avec des échantillons standards.
- De plus, le résidu de sucre a été dissous dans la pyridine anhydre (100 µl), et du chlorhydrate d'ester méthylique de L-cystéine (0,06 mol/l) a été ajouté.
- Le mélange a été agité à 60°C, pendant 1 h, puis 150 µl de HDMS-TMCS (hexaméthylidisilane/triméthylchlorosilane 3:1) a été ajouté, puis mélangé à 60°C, pendant 30 min. Le précipité formé est centrifugé et le surnageant est concentré sous un flux de N₂.
- Le résidu a été partagé entre le n-hexane et H₂O (0,1 ml chacun).
- L'extrait d'hexane (1 µl) a été analysé par CPG.
- Les configurations absolues ont été déterminées en comparant les temps de rétention avec des dérivés de thiazolidine préparés de manière similaire à partir de sucres standards.
- Le L-rhamnose et le D-glucose ont été caractérisés par co-injection des dérivés silylés avec des échantillons silylés standards ayant un temps de rétention de 13.1 min pour le L-rhamnose et 18.6 min pour le D-glucose (Hara et al., 1987).

Matériel et conditions de mesure :

Chromatographe en phase *Thermoquest*, avec :

- Colonne capillaire DB-1701 (30 m × 0,25 mm).
- Détecteur par FID, température du détecteur 250°C.
- Gaz vecteur : Hélium He.
- Température d'injection 230°C, température initiale a été maintenue à 80°C pendant 5min puis porté à 270°C (15°C/min).

VI.2.2. Méthodes spectroscopiques

L'élucidation de la structure des saponines et des autres composés repose sur des techniques spectroscopiques. Les progrès modernes dans certaines de ces techniques, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masse, ont facilité énormément la tâche difficile d'analyser les saponines. Ainsi, la spectrométrie de masse donne des informations sur le poids moléculaire et, dans de nombreux cas, la séquence du sucre tandis que les techniques de résonance magnétique monodimensionnelle et bidimensionnelle (RMN 1D et 2D) contribuent à l'élucidation de la structure de l'aglycone et permettent la localisation des liaisons du sucre (Hostettmann et Marston, 1995). De plus, la spectroscopie RMN est une technique non destructrice et à la fois RMN et MS permettent l'examen de la saponine intacte (Silverstein et al., 2007).

VI.2.2.1. Spectrométrie de Masse (SM)

La spectrométrie de masse joue un rôle important dans l'analyse des saponines grâce à sa sensibilité et sa capacité importante de détection. C'est une technique physique d'analyse dont le concept est relativement simple : un composé est ionisé, les ions séparés selon leur rapport masse/charge (m/z) et le nombre d'ions de chaque unité masse/charge est enregistré sous la forme d'un spectre (Silverstein et al., 2007). La plupart des ions formés ne portant qu'une seule charge, m/z est simplement égale à la masse de l'ion (Skoog et al., 2003). Tous les spectromètres de masse disposent de techniques pour l'ionisation de l'échantillon et pour la séparation des ions selon leur rapport m/z . Une fois séparés, les ions doivent être détectés et quantifiés (Silverstein et al., 2007). Certains types de chromatographies introduisent habituellement l'échantillon dans le spectromètre de masse, et de nombreux instruments permettent également l'introduction directe de l'échantillon dans la chambre d'ionisation.

Les méthodes d'ionisation

Un grand nombre de méthodes d'ionisation sont utilisées. Les plus courantes sont les trois domaines que sont la phase gazeuse, la désorption et l'évaporation. La technique d'ionisation par Electrospray (ES) est utilisée pour déterminer le poids moléculaire de nos composés purs.

ElectroSpray Ionisation (ESI-MS)

En électrospray (ES), les ions sont générés à pression atmosphérique (ou proche); la technique s'appelle donc également ionisation à pression atmosphérique (API). L'échantillon en solution (habituellement dans un solvant polaire volatile) pénètre la source d'ions via un capillaire en acier inoxydable entouré d'un flux coaxial d'azote, appelé gaz nébuliseur. L'extrémité du capillaire est maintenue à une tension élevée par rapport à une contre électrode. La différence de potentiel produit un gradient de champs pouvant aller jusqu'à 5 KV/cm. Un aérosol de gouttelettes chargées se forme lorsque la solution quitte le capillaire. Le flux de gaz nébuliseur dirige les effluents vers le spectromètre de masse.

Matériel

ESI-MS (positive-ion-mode) : Bruker micrOTOF mass spectrometer.

VI.2.2.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est, fondamentalement, une autre forme de spectrométrie d'absorption apparenté à la spectroscopie IR ou UV. Dans des conditions appropriées, *sous un champ magnétique*, un échantillon peut absorber une radiation électromagnétique dans la gamme des radiofréquences (rf) à des fréquences régies par les caractéristiques de l'échantillon. L'absorption est fonction de certains des noyaux présents dans la molécule, un spectre RMN est la représentation de l'intensité des pics en fonction de leur fréquence d'absorption (Silverstein et al., 2007). De toutes les méthodes modernes pour l'élucidation de la structure des oligosaccharides et des glycosides, la spectroscopie RMN fournit l'information la plus complète, avec ou sans connaissances structurales antérieures (Hostettmann et Marston, 1995).

Matériel : spectromètre UNITY-600/Varian INOVA 600 équipé d'un système SUN 4 L-X DIM à la fréquence de fonctionnement de 600 MHz. Les spectres des expériences bidimensionnelles COSY, TOCSY, NOESY, HSQC et HMBC, ont été enregistrés à l'aide des séquences impulsionsnelles spécifiques fournies par Varian. Enregistrement RMN-H1 à 600

MHz et RMN-C13 à 150 MHz. Le solvant de mesure est la pyridine deutérée (C_5D_5N) dans le cas des saponines et le méthanol dans le cas des autres composés.

Les différents types de spectres apportent de nombreux renseignements à l'interprétation.

VI.2.2.2.1. Spectroscopie de RMN monodimensionnelle

VI.2.2.2.1.1. RMN du proton (RMN^1H)

Jusqu'à récemment, le spectre RMN^1H a été utilisé pour identifier l'aglycone par ses résonances méthyliques ou les protons oléfiniques. L'avènement de la RMN 2D a récemment permis l'exploration des résonances de protons, qui avaient caché une mine d'informations sur la nature, la configuration et la liaison du sucre. Le spectre de RMN^1H d'une saponine se présente aux trois zones de résonances ([Massiot et al., 1995](#)) :

- de 0.5 à 3 ppm : les protons de la génine, en particulier les méthyles.
- de 3 à 4.5 ppm : les protons osidiques sauf les anomères.
- de 4.5 à 6 ppm : les protons anomériques sous la forme de doublets ou de singulets élargis (nombre de résidus monosaccharidiques), et les protons éthyléniques de la génine.

VI.2.2.2.1.2. RMN du carbone 13 ($RMN^{13}C$)

L'intervalle de résonance des carbones se situe entre 0 et 200. Le spectre $RMN^{13}C$ présente les zones de résonance suivantes :

- de 10 à 60 ppm : les carbones de la génine.
- de 60 à 90 ppm : les carbones osidiques sauf les anomères, et quelques carbones hydroxylés de la génine.
- de 90 ppm à 110 : les carbones anomériques des sucres.
- enfin, le carbone d'une fonction carboxyle résonne à environ 180.

VI.2.2.2.2. Spectroscopie de RMN bidimensionnelle homonucléaire

VI.2.2.2.2.1. COrelated SpectroscopY (COSY)

Les spectres COSY se traduisent par la naissance de pics diagonaux ou croisés pour tous les protons présentant un couplage spin-spin ; en terme simple, les pics croisés corrélient les protons couplés. En un sens, cette expérience permet de visualiser quel proton est couplé avec quel autre ([Silverstein et al., 2007](#)).

VI.2.2.2.2. Total COrrelation SpectroscopY (TOCSY)

Une expérience TOCSY a tous les aspects d'une expérience COSY, les pics croisés ont la même apparence. La différence réside dans le fait que les pics croisés d'un spectre COSY sont dus à des spins couplés alors que dans un spectre TOCSY, tous les spins d'un système de spin apparaissent couplés (Silverstein et al., 2007).

VI.2.2.2.3. Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY (ROESY)

Les expériences ROESY comme NOESY corrélient les protons proches dans l'espace, typiquement distant de 4.5 Å ou moins (Silverstein et al., 2007).

VI.2.2.2.3. Spectroscopie de RMN bidimensionnelle hétéronucléaire

VI.2.2.2.3.1. Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)

L'expression HSQC corréle les noyaux ^{13}C aux protons directement liés, c'est-à-dire couplés ; il s'agit de couplage à une liaison ($^1J_{\text{H-C}}$) (Silverstein et al., 2007).

VI.2.2.2.3.2. Heteronuclear Multiple Bond Coherence (HMBC)

L'expérience HMBC capitalise sur les couplages à deux et trois liaisons et donne un spectre extrêmement riche (bien que parfois encombré). Indirectement, on obtient des corrélations carbone-carbone, et de plus, on peut corréler les carbones quaternaires avec les protons voisins (Silverstein et al., 2007).

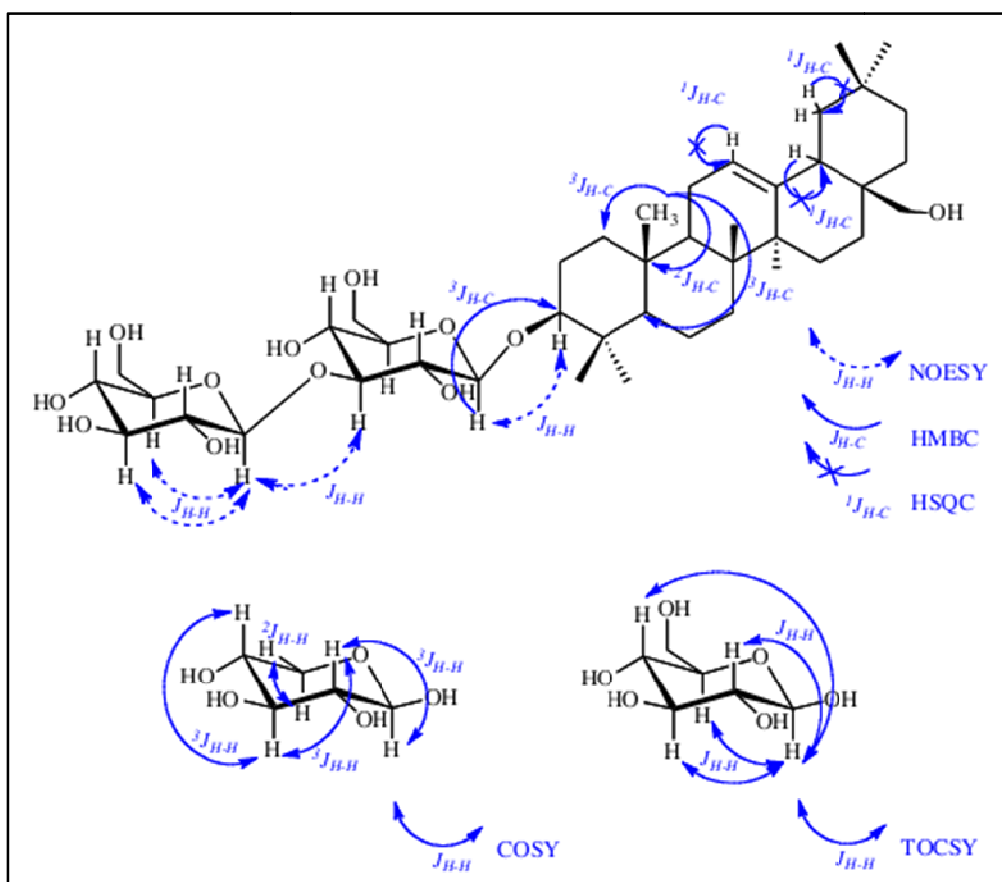


Figure 9 : Corrélations observées à l'aide de différentes expériences bidimensionnelles (Manase, 2013).

IV.3. Investigations phytochimiques

IV.3.1. Etude phytochimique d'*A. tenuifolius* Cav.

IV.3.1.1. Etude phytochimique des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav.

IV.3.1.1.1. Extraction des métabolites secondaires

L'extraction des parties aériennes séchées et broyées d'*A. tenuifolius* (100 g), après dégraissage à l'éther de pétrole, a été réalisée aux ultrasons avec l'éthanol aqueux EtOH/H₂O (75/35), pendant 30 min, répétée 3 fois. Après évaporation à sec sous pression réduite à 50 °C, un extrait brut de 23 g a été obtenu (Figure 10).

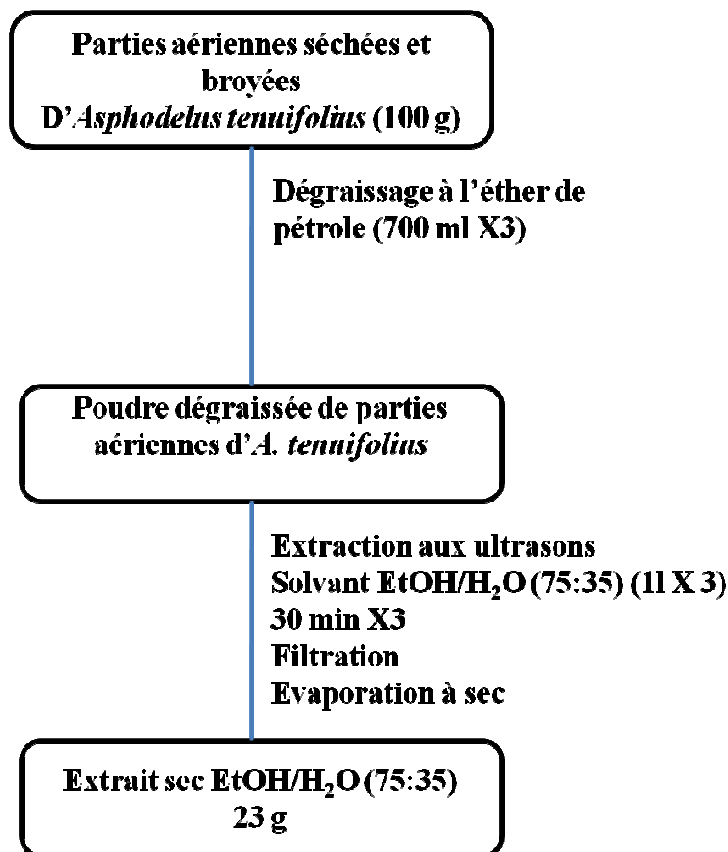


Figure 10 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav.

IV.3.1.1.2. Séparation et fractionnement des métabolites secondaires

Une partie de l'extrait éthanolique (18 g) a été soumise à une VLC sur silice en phase normale avec un gradient d'élution de CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7. Quatre fractions ont été obtenues D1, D2 (2 g), D3 (1.5 g), D4 (4 g). La fraction D2 (2 g) a été soumise à une VLC, sur silice en phase inverse RP-18 avec un gradient d'élution de H₂O/MeOH 100:0, 50:50 et 0:100 et a conduit à trois sous fractions D21, D22 (150 mg), D23 (500 mg) (Figure 11).

IV.3.1.1.3. Isolement et purification des métabolites secondaires

La sous fraction D22 (150 mg) soumise à une MPLC sur gel de silice en phase normale en utilisant le gradient CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7 a conduit à 7 fractions D221-D227. La fraction D222 (19 mg) a été soumise à une chromatographie sur colonne ouverte (CC) (Sephadex LH-20, MeOH) et a conduit à l'isolement du composé pur AT2 (2.6 mg). Une MPLC (Gel de silice en phase normale, CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5) de la

fraction D227 (28 mg) à l'aide du gradient de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7 a conduit au composé pur **AT3** (5 mg) (Figure 11).

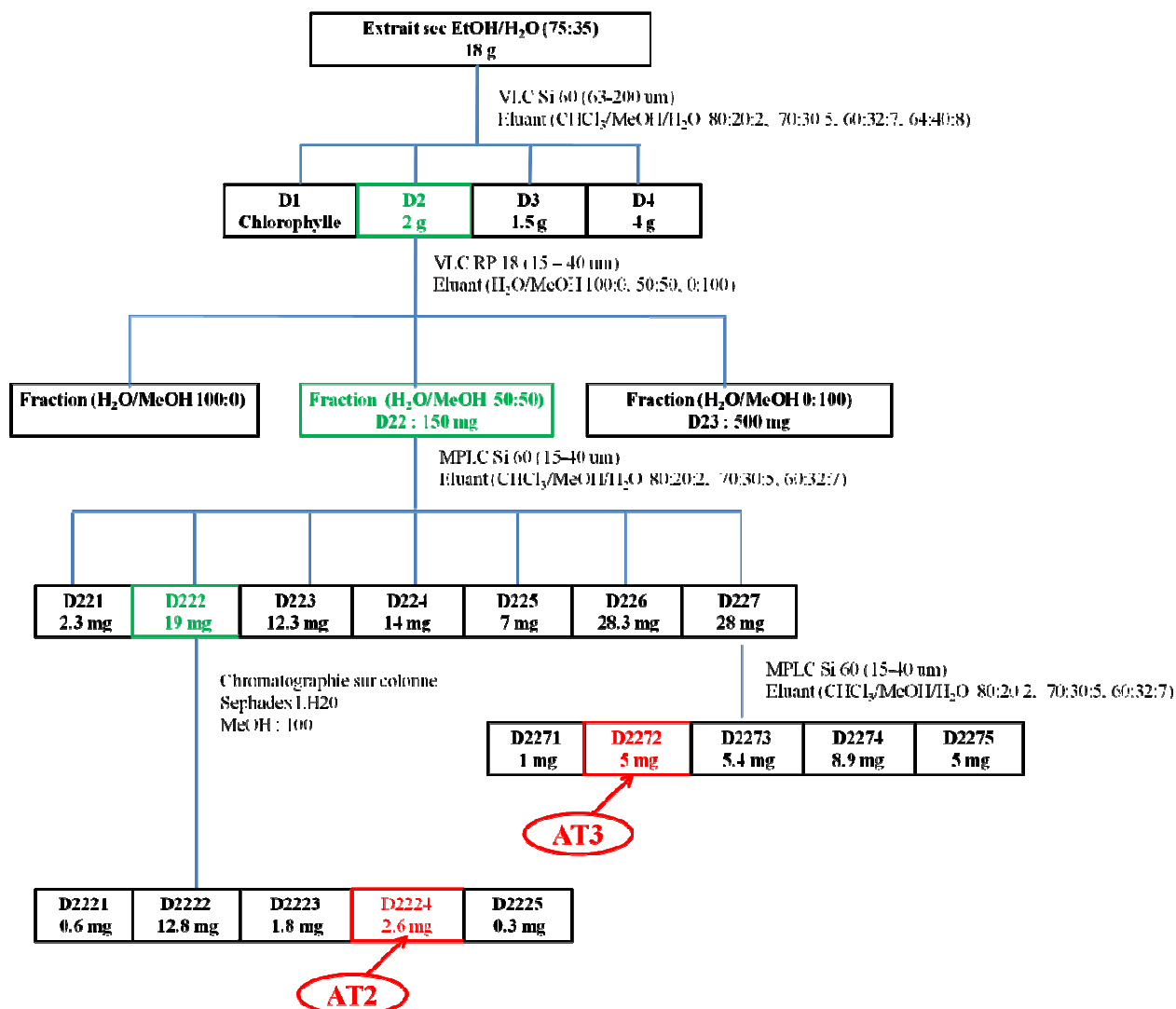


Figure 11 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav.

IV.3.1.2. Etude phytochimique des racines d'*A. tenuifolius* Cav.

IV.3.1.2.1. Extraction des métabolites secondaires

Les racines séchées et broyées d'*A. tenuifolius* (100 g) ont été soumises à une extraction aux ultrasons, pendant 30 minutes dans de l'éthanol aqueux à 75/35, répétées trois fois. Après filtration et évaporation du solvant sous vide, un extrait brute de 18 g a été obtenu (Figure 12).

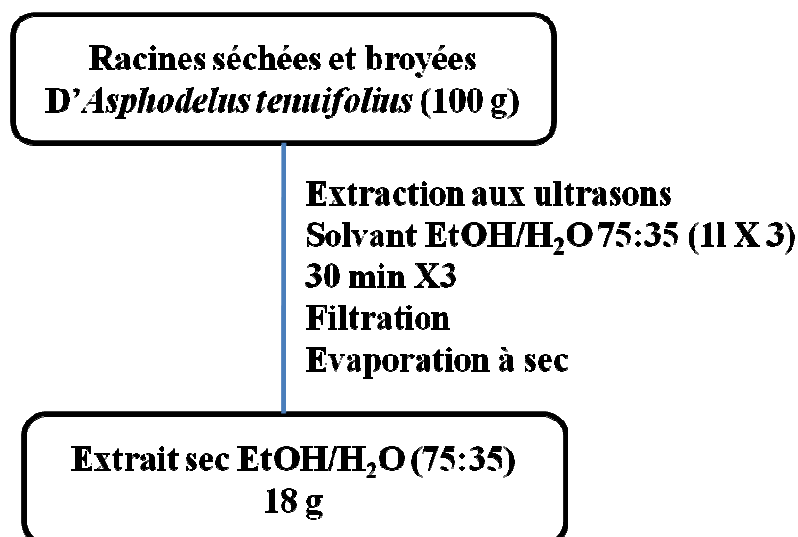


Figure 12 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires des racines *d'A. tenuifolius* Cav.

IV.3.1.2.2. Séparation et fractionnement des métabolites secondaires

L'extrait éthanolique obtenu (10 g) a été soumis à une VLC sur gel de silice en phase inverse, élué avec un gradient de H₂O/MeOH 100:0, 50:50 et 0:100, après évaporation du solvant, trois fractions ont été obtenues. La fraction (0:100, 800 mg) a été fractionnée par une VLC sur gel de silice en phase normale à l'aide du gradient CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7 et a donné trois sous fractions B1 (500 mg), B2 (83 mg), B3 (27.7 mg).

IV.3.1.2.3. Isolement et purification des métabolites secondaires

La sous fraction B1 (500 mg) soumise à des MPLC successives en phase normale à l'aide du gradient CHCl₃/MeOH/H₂O 100:00:00, 95:5:00, 80:20:2, 70:30:5 a conduit à trois composés purs **AT6** (5 mg), **AT7** (7.6 mg), et **AT8** (3.1 mg).

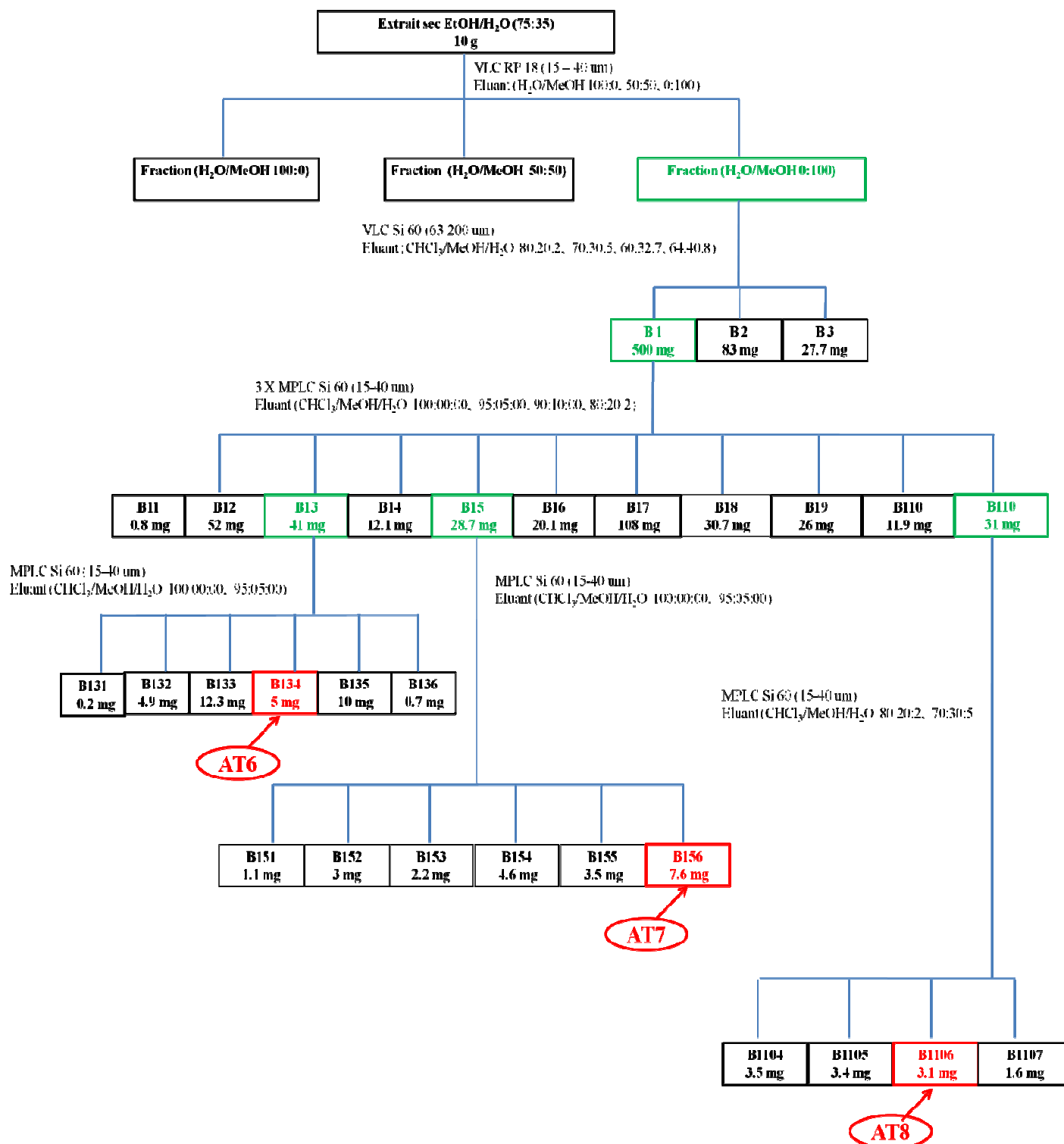


Figure 13 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des racines d'*A. tenuifolius* Cav.

IV.3.2. Etude phytochimique des racines de *B. spinosum* Gouan

IV.3.2.1. Extraction des métabolites secondaires

Les racines de *B. spinosum* ont été séchées et broyées (100 g). L'extraction aux ultrasons a été réalisée sur la matière sèche pendant 30 minutes, en utilisant un solvant d'extraction à l'éthanol aqueux EtOH/H₂O 75 : 35, la procédure a été répétée trois fois. Après filtration et évaporation à sec sous vide, un résidu de 13 g a été obtenu.

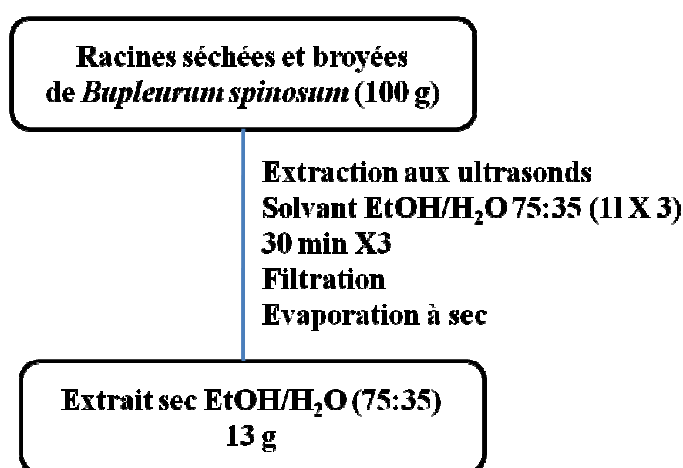


Figure 14 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires des racines de *B. spinosum* Gouan

IV.3.2.2. Séparation et fractionnement des métabolites secondaires

Un échantillon de 10 g du résidu sec éthanolique a été soumis à une VLC sur gel de silice en phase inverse RP-18, en utilisant un gradient de H₂O/MeOH 100:0, 50:50 et 0:100. Trois fractions ont été obtenues. La fraction soluble dans le solvant H₂O/MeOH (3.6 g) a été soumise à une séparation grossière avec une VLC sur gel de silice en phase normale, avec un gradient d'élution de CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7, et 64:40:8, et a conduit à cinq sous fraction F1 (1g), F2 (643 mg), F3 (601 mg), F4 (744 mg), et F5 (288 mg).

IV.3.2.3. Isolement et purification des métabolites secondaires

Les sous fractions F4 et F5 ont été purifiées par plusieurs MPLC successives sur gel de silice en phase normale en utilisant le gradient de CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7 et 64:40:8 et gel de silice en phase inverse avec le gradient MeOH/H₂O 5:95 → 100:0.

La sous fraction F4 a conduit à l'isolement de 4 composés purs **BS2** (3 mg), **BS5** (10 mg), **BS6** (5 mg) et **BS8** (3.5 mg). La sous fraction F5 a donné les composés purs **BS1** (17 mg), **BS3** (5 mg), **BS4** (3 mg) et **BS7** (10 mg).

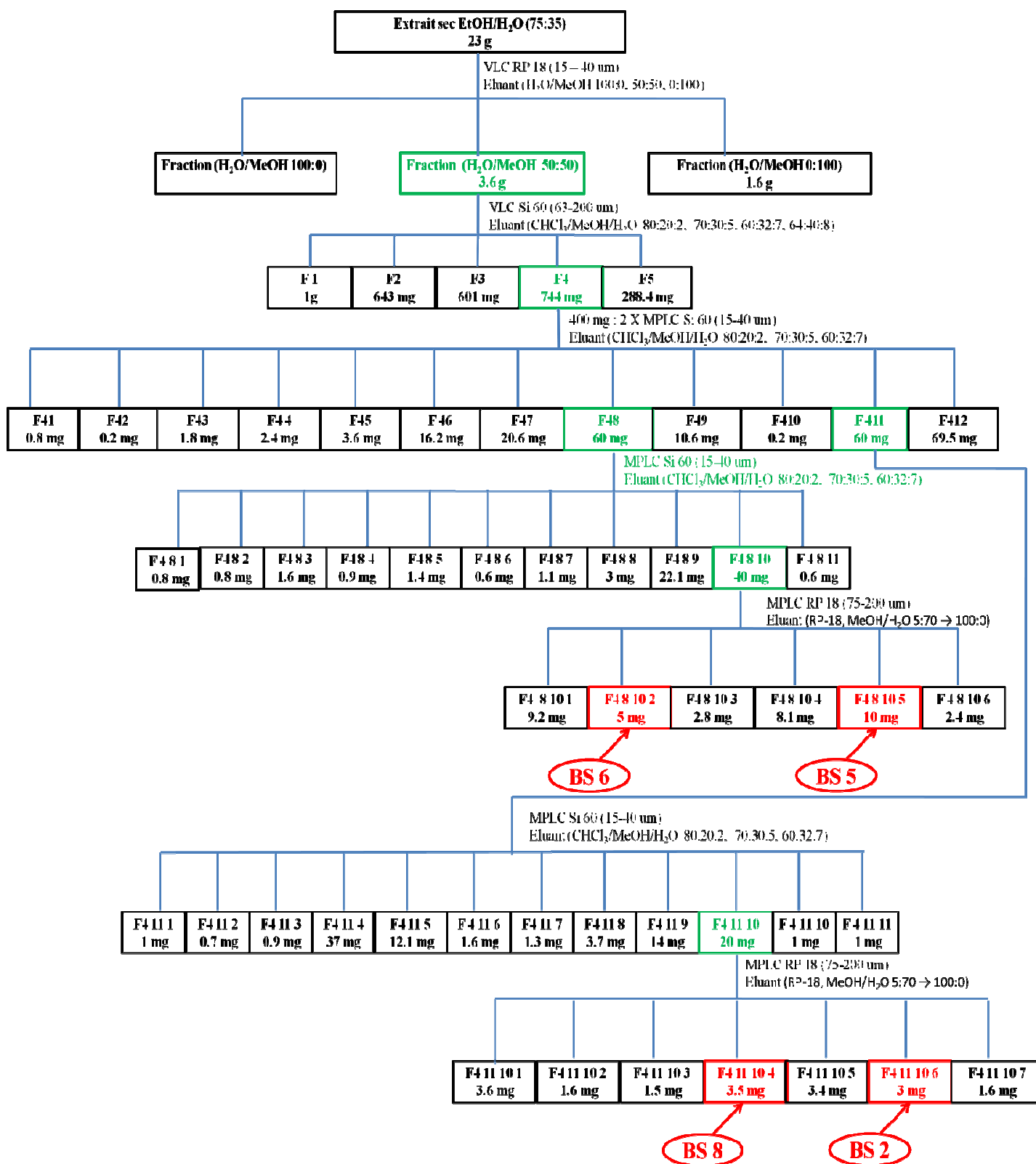


Figure 15 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des racines de *Bupleurum spinosum* Gouan.

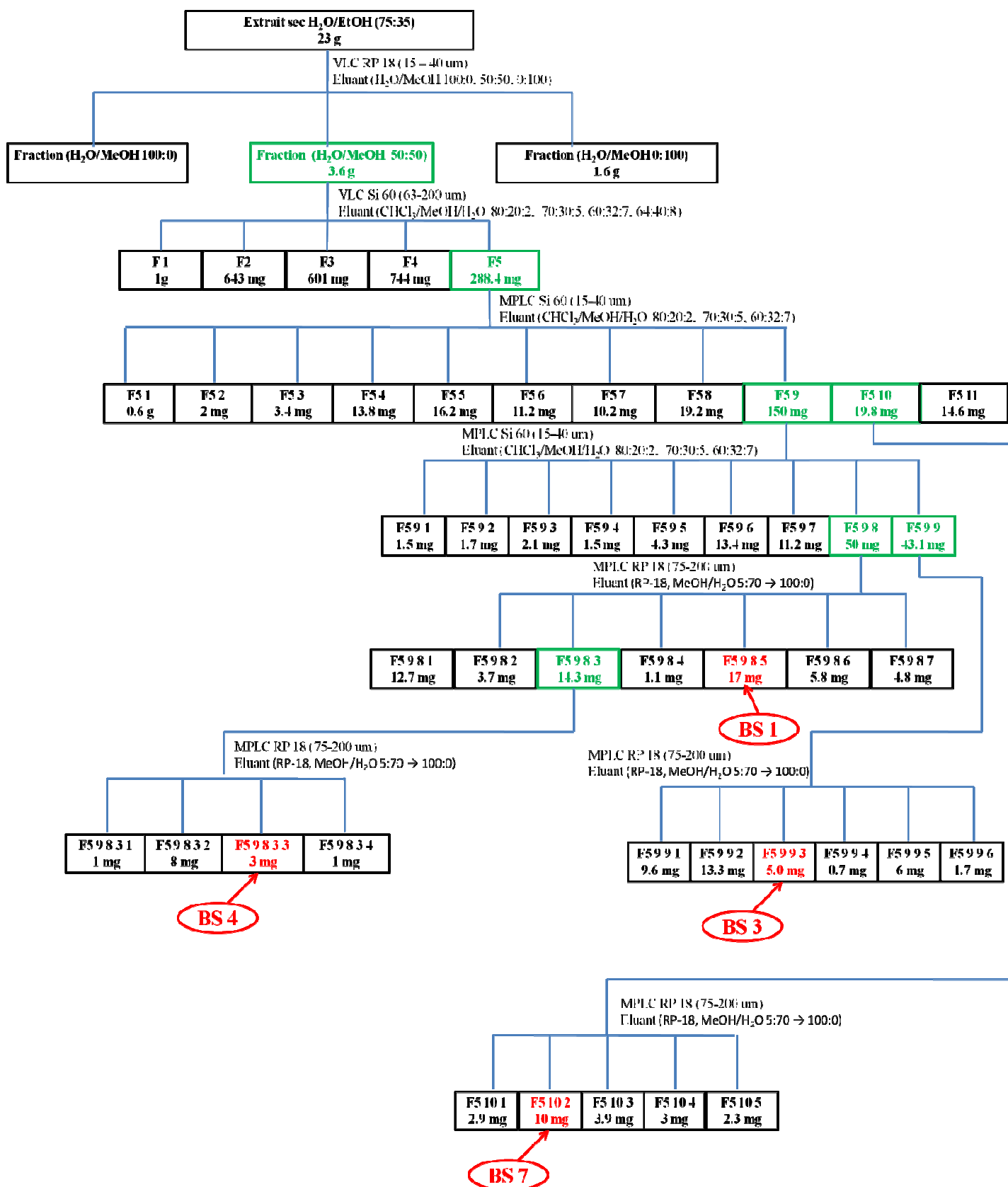


Figure 16 : Schéma d'isolement de composés purs à partir des racines de *Bupleurum spinosum* Gouan.

IV.3.2.4. Contrôle des composés isolés purs par HPLC analytique

Le contrôle de la pureté et de l'identité des composés isolés, qui ont montré des profils similaires en HPTLC, a été fait par HPLC en suivant la méthode suivante : un gradient eau-acétonitrile avec un mélange 70 : 30 des deux solvants, pour aboutir à 100 % d'acétonitrile en 30 minutes. Le fractionnement a été réalisé sur une colonne C18 de 25 cm de longueur, et la détection en UV a été effectuée à 201 nm. Cette valeur correspond à l'absorbance des saponines.

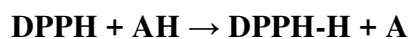
Le temps de rétention des différents composés a été comparé afin de confirmer ou non leurs puretés et leurs natures différentes.

VII. Etude biologique

VII.1. Activité anti-oxydante (Test du piégeage du radical libre DPPH)

VII.1.1. Principe

L'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques (EtOH/H₂O 75/35) des plantes étudiées a été évaluée *in vitro* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), qui se caractérise par sa capacité de former des radicaux libres stables, selon un protocole décrit par [Coelho et al \(2011\)](#). La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution qui devient jaune pâle et une diminution de l'absorbance :



Où **AH** est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

Ce test permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI_{50} (CI_{50} ou IC_{50} : il définit la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50 % du DPPH en solution) des substances anti-oxydantes contenues dans un extrait.

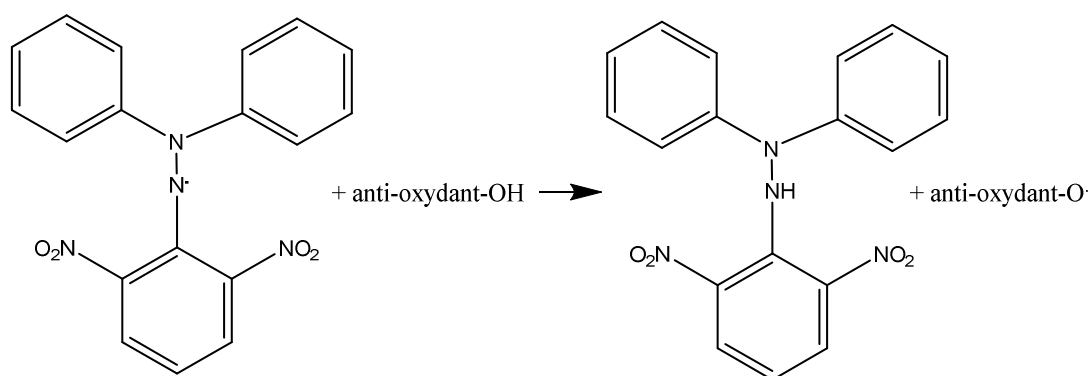


Figure 17 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

VII.1.2. Mode opératoire

- Préparer des dilutions des extraits de chaque plante dans le méthanol à partir d'une solution mère.

- Mettre 0.1 ml de chaque dilution dans un tube à essai, ajouter 3.9 ml de la solution méthanolique de DPPH 60 μ M.
- Laisser incuber pendant 30 minutes, à l'abri de la lumière et à température ambiante.
- Lire les absorbances des différents extraits à 517 nm.
- Mener les mêmes opérations pour le contrôle ou le standard qui est l'acide ascorbique en remplaçant les extraits de plantes par du méthanol pur. Répéter les opérations trois fois.

Les échantillons, le standard (acide ascorbique), sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = \frac{[(\text{Absorbance à 517 nm du contrôle} - \text{Absorbance à 517 nm de l'échantillon}) / \text{Absorbance à 517 nm du contrôle}] \times 100.}$$

L'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

Les résultats de la présente étude ont été analysés par un logiciel de gestion de bases de données Manitab. 18, en utilisant le test de l'analyse de la variance à un seul facteur (one-way ANOVA), dont le niveau de signification est de 5 %. Ce test nous permet de vérifier si les échantillons sont issus de la même population ou présentent des différences significatives.

VII.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Il existe de nombreuses méthodes actuellement disponibles pour évaluer l'activité antibactérienne d'une substance naturelle ou d'un extrait végétal. Les méthodes communément employées sont réalisées par diffusion sur disque en milieu gélosé ou par dilution en milieu liquide. La méthode de diffusion réalisée sur milieu solide, consiste à déposer un disque de papier absorbant préalablement imprégné de l'échantillon sur une géloseensemencée avec l'inoculum bactérien. Les molécules actives diffusent à partir des disques et la présence d'une zone d'inhibition, dans laquelle il n'y a pas eu de croissance, indique la présence de molécules actives à l'égard du micro-organisme testé. La méthode de dilution en milieu liquide consiste à mettre un inoculum bactérien au contact de concentrations croissantes de l'échantillon. Le pouvoir antibactérien des substances actives est déterminé par l'inhibition de la croissance bactérienne visualisée par l'absence d'un trouble ou d'un culot.

Dans ce travail, la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé et la méthode de microdilution en milieu liquide ont été utilisées pour pouvoir déterminer une éventuelle activité antibactérienne des plantes étudiées. Il faut noter que l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents composés dépend de nombreux facteurs : virulence de la souche, quantité d'inoculum, composition et pH du milieu, température et durée d'incubation, ainsi que du solvant dans lequel le produit est dilué. Afin d'obtenir des résultats les plus reproductibles d'une part, et les plus comparables d'autre part, les tests ont été réalisés selon les recommandations de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

VII.2.1. Choix des micro-organismes testés

Les différents extraits de plantes ont été testés sur un panel de bactéries à Gram positif (+) et à Gram négatif (-), qui se différencient par leur caractéristiques membranaires. Les bactéries à gram positif sont constituées d'une paroi à plusieurs couches de peptidoglycanes et d'un feutrage d'acide teichoïque, teichuronique et lipotéichoïque. En revanche, les bactéries à gram négatif sont caractérisées par une paroi à une ou à deux couches de peptidoglycanes, recouverte d'une membrane externe constituée de phospholipides, de lipopolysaccharides et de lipoprotéines.

Ces bactéries sont des souches de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC) et sont fournies par le laboratoire de microbiologie du CHU Tizi Ouzou, et sont soumise à une identification préalable par une coloration de Gram. La particularité morphologique et l'origine des bactéries sélectionnées sont résumées dans le tableau 9.

Tableau 9 : Description et pouvoir pathogène des souches de bactéries, utilisées lors de l'étude.

Type de bactérie et morphologie Gram	Espèce	ATTC	Pouvoir pathogène
Bacille Gram –	<i>Escherichia coli</i>	25922	Infections urinaires, septicémies, infections respiratoires.
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Infections urinaires et pulmonaires, brûlures, plaies, septicémies.
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4392	Infections urinaires et pulmonaires, plaies, septicémies.
Cocci Gram –	<i>Staphylococcus aureus</i>	43300	Infections cutanées, plaies, brûlures, septicémies, Intoxications alimentaires, ostéites, Infections pulmonaires, endocardites.
Bacille Gram +	<i>Bacillus cereus</i>	10876	Intoxications alimentaires, septicémie chez les immunodéprimés.
Cocci Gram +	<i>Enterococcus faecalis</i>	494502	Endocardite, infections urinaires, prostatites, cellulite infectieuse, plaies, septicémies.

VII.2.2. Procédure de diffusion sur gélose

La méthode de diffusion sur gélose demeure l'une des anciennes méthodes utilisées en routine pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens.

VII.2.2.1. Préparation des précultures

Les souches bactériennes conservées ont été ensemencées dans des tubes contenant du Brain heart Infusion Broth (BHIB) à 37°C pendant 24h, afin de stimuler leur développement. Après croissance bactérienne, un repiquage est effectué dans des boîtes de pétri contenant du Muller-Hinton puis incubées à 37°C pendant 24h.

VII.2.2.2. Préparation de l'inoculum bactérien

L'inoculum a été préparé en choisissant 4 à 5 colonies bien isolées à partir des pré-cultures et les transférer à l'aide d'une anse dans un tube d'eau physiologique stérile à 0.9 %. Emulsionner et homogénéiser à l'aide d'un agitateur vortex une quantité suffisante de culture bactérienne. Après homogénéisation des tubes avec un vortex. Vérifier la densité de la

suspension à l'aide d'un spectrophotomètre avec un faisceau de 1 cm. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0.08 et 0.13, ce qui correspond à un inoculum de 0.5 MacFarland (MF) et d'environ 10^8 UFC (Unité Formant Colonie).

VII.2.2.3. Milieu de culture

Le milieu Muller Hinton (MH) a été utilisé tout au long des essais antibactériens comme recommandé par CLSI.

VII.2.2.4. Préparation des extraits à tester

Les extraits secs de plantes étaient dissous dans du diméthylsulfoxyde stérile (DMSO) à la concentration de 200 mg/ml.

VII.2.2.5. Ensemencement et dépôt des disques

L'inoculum bactérien est ensemencé dans les 15 minutes suivant sa préparation en plongeant un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide par rotation de l'écouvillon sur les parois du tube. Il convient d'écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions, puis d'écouvillonner partout autour du bord de la surface de la gélose.

20 μ l de chaque extrait ont été déposés sur un disque de papier buvard de 6 mm de diamètre et celui-ci a été déposé sur la surface de la gélose inoculée. Des disques imprégnés de DMSO (20 μ l) et de chloramphénicol (30 μ g), servant respectivement de témoin négatif et de témoin positif, ont aussi été déposés sur la surface de la gélose inoculée. Les boîtes de pétri ont été incubés à 37 °C pendant 18 heures. Les tests sont réalisés en triplicata pour chaque extrait.

VII.2.2.6. Lecture et interprétation des résultats

Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieure à 6 mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. La mesure est prise avec une règle sur le fond de la boîte de pétri.

VII.2.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) par la méthode de microdilution

Plusieurs auteurs ont déjà démontré la sensibilité de cette méthode comparée à la technique de diffusion sur gélose. Eloff (1999) a étudié l'activité antibactérienne d'extrait d'acétone de *Combretum molle* sur plusieurs souches bactériennes. Avec la technique de diffusion sur

disque, la concentration la plus faible de l'extrait de *C. molle* à laquelle l'inhibition de la croissance de *S. aureus* a été observée était de 0.56 mg/ml. Avec la technique des microplaques, la valeur de la CMI était huit fois inférieure à (0.07 mg/ml). Dans cette expérience, la quantité absolue d'extrait qui pouvait inhiber la croissance de *S. aureus* avec la technique de diffusion était de 56 ng et avec la technique des microplaques était de 1.75 ng rendant la méthode de microdilution 32 fois plus sensible.

La détermination de la CMI de nos extraits végétaux contre diverses souches bactériennes a été réalisée par la méthode de microdilution en utilisant la résazurine, décrite par [Drummond et Waigh en 2000](#). Cette méthode à la résazurine est simple, sensible, rapide, robuste et fiable.

La résazurine est un indicateur coloré d'oxydo-réduction utilisé pour l'évaluation de la croissance cellulaire lors des tests de viabilité, en particulier dans divers tests de cytotoxicité. C'est un colorant bleu non fluorescent et non toxique qui devient rose et fluorescent lorsqu'il est réduit en résorufin par des oxydoréductases dans des cellules viables. Un test de réduction de résazurine est également utilisé depuis des décennies pour démontrer la contamination bactérienne et fongique du lait.

VII.2.3.1. Préparation de la solution de résazurine

La solution de résazurine a été préparée par dissolution de 270 mg du colorant dans 40 ml d'eau distillée stérile. Un mélangeur vortex a été utilisé pour s'assurer qu'il s'agissait d'une solution bien dissoute et homogène. La solution a été stérilisée par filtration en utilisant des filtres antimicrobiens de 0.2 µm.

VII.2.3.2. Préparation des microplaques

Les plaques ont été préparées dans des conditions aseptiques. En général, les plaques à 96 puits ont été préparées en distribuant dans chaque puits 100 µl du bouillon MH, 100 µl d'extrait (ou de chloramphénicol), 10 µl d'inoculum et 10 µl de résazurine.

Pour chaque plaque, un contrôle de stérilité (extrait végétal, bouillon MH, résazurine), un contrôle positif (chloramphénicol, inoculum, bouillon MH, et résazurine) et un contrôle négatif (inoculum, bouillon MH et résazurine) ont été inclus.

Les extraits de plantes ont été dissous dans le DMSO pour obtenir une concentration de la solution mère de 200 mg/ml. La solution mère de chloramphénicol a été préparée également dans le DMSO à une concentration de 0.001 mg/ml.

Afin de déterminer la valeur de CMI des extraits et du contrôle positif, douze dilutions en série ont été effectuées, un volume de 100 μ l d'extrait végétal ou de chloramphénicol et 100 μ l du bouillon MH ont été ajoutés et mélangés dans le premier puits. Ensuite, 100 μ l de solution du premier puits ont été utilisés pour réaliser des dilutions en série en aval dans onze puits consécutifs, chacun contenant déjà 100 μ l du bouillon MH. A chaque puits, ont été ajoutés 10 μ l de résazurine et 10 μ l d'inoculum.

Le contenu de chaque puits a été soigneusement mélangé avec une micropipette et les microplaques ont été placées dans un incubateur réglé à 37°C pendant 18–24 h. Le changement de couleur a ensuite été évalué visuellement. Toute couleur passant du violet au rose ou incolore ont été enregistrés comme positifs. Les microplaques ont été préparées en triple.

La concentration la plus faible qui a induit une inhibition de la croissance bactérienne (le dernier puits dont on n'a pas observé un changement de couleur) a été prise comme valeur CMI.

VII.2.3.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

Après la détermination de la CMI, à partir de tous les puits sans croissance bactérienne, 5 μ l ont été repiqués sur une gélose nutritive. La viabilité des cellules a été vérifiée après 24 h d'incubation à 37°C. La CMB des extraits antibactériens a été définie comme la concentration la plus faible sans croissance visible. Tous les tests de CMB ont été réalisés en triple.

Partie III.

Résultats

I. Enquête ethnobotanique

Diversité des plantes médicinales utilisées dans les régions d'étude

Dans la présente étude, nous avons recensé 229 espèces végétales, utilisées dans les différentes régions citées, ces plantes appartiennent à 82 familles botaniques.

Ce travail a été réalisé dans deux zones distinctes (nord et sud algérien), qui sont caractérisées par des différences climatiques et floristiques. Cependant, des similitudes d'usage ont été retrouvées, cela peut être expliqué par le nombre d'espèces cultivées dans les deux zones.

Le résumé des résultats les plus pertinents de l'étude, est fourni dans deux tableaux différents (Tableau 10 pour les wilayas du nord et tableau 11 pour une wilaya du sud), qui représentent l'inventaire des espèces citées, les parties utilisées et les maladies traitées.

L'analyse de l'enquête ethnobotanique réalisée au sein de la population berbère a permis de fournir des données que nous avons répartis dans différentes rubriques telles que les familles les mieux représentées, les espèces les plus utilisées, les parties de plantes utilisées, le mode de préparation des remèdes et les pathologies traitées, etc.

Tableau 10 : Liste de plantes médicinales recensées à Bouira, Tizi Ouzou, Boumerdès, Bejaia, Tipaza, et Batna.

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
Acanthaceae	<i>Acanthus mollis</i> L.	Thafrefera, Assemas Bekhbekh	Feuilles	Bronchite, Grippe, Toux.
Adoxaceae	<i>Sambucus nigra</i> L.	Akhilouan, Arouari	Feuilles	Douleurs ostéo-articulaires
Amaranthaceae	<i>Atriplex halimus</i> L.	Gtaf Aremmas	Feuilles	Kystes ovariens, affections thyroïdiennes
	<i>Spinacia oleracea</i> L.	Ividhes Esselq	Feuilles	Anémie
Amaryllidaceae	<i>Allium ampeloprasum</i> L.	Tharnast	Plante entière	Constipation, reminéralisant
	<i>Allium cepa</i> L.	Leysel Bessal	Bulbe	Affections respiratoires, toux, fièvre, fortifiant Furoncle, abcès Hémorroïdes Insolation, migraine, otite
	<i>Allium sativum</i> L.	Thicherth Ethoum	Bulbe	Alopécie, verrues, eczéma, Hypoglycémiant, hypotenseur Congestion nasale, asthme, rhume, bronchite Infections urinaire Diarrhées, vomissements Douleurs musculaires
	<i>Allium triquetrum</i> L.	Vivras	Plante entière	Transit intestinal, reminéralisant
Anacardiaceae	<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Thidhekth Edarow	Feuilles et fruits	Affections respiratoires (Bronchite, asthme, toux) Cancer dermique, brûlures, et blessures Vers intestinaux, diarrhée, vomissements, gastralgie, RGO, abcès dentaire Fortifiant, anti-inflammatoire, antiseptique, douleurs articulaires, varices
Apiaceae	<i>Ammi visnaga</i> Lamk.	Thififra Souak ennabi Khellal	Racines	Stérilité féminine Hydrocéphalie Malformations congénitales
	<i>Anethum graveolens</i> L.	Thansawth	Graines	Digestive, ballonnements, spasmes abdominaux, gaz intestinaux, emménagogue
	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Lkwesber Kosber	Parties aériennes et graines	Digestive, ballonnements, spasmes abdominaux, gaz intestinaux
	<i>Cuminum cyminum</i> L.	Kemoun	Graines	Antispasmodique, digestif, carminatif, ballonnement, affections respiratoires, insomnies

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
	<i>Eryngium tricuspdatum</i> L.	Thariza	Racines	Troubles gastro-intestinales Douleurs intestinales
	<i>Foeniculum vulgare</i> (Mill.) Gaerth.	Tamsaouth Besbas	Bulbes, racines et graines	Vomissements Antispasmodique Lactation
	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Habet lahlawa	Graines	Ballonnements et gaz intestinaux, stomachique
	<i>Smyrniium olusatrum</i> L.	Ighses	Racines	Douleurs articulaires et musculaires
	<i>Thapsia garganica</i> L.	Adharyis Bounafaa	Racines	Douleurs articulaires Stérilité féminine Fortifiant
	<i>Torilis arvensis</i> (Huds.) Link.	Sissan	Racines	Reminéralisant
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Illili Defla	Feuilles	Douleurs abdominales Hémorroïdes Cancers dermiques, verrues, eczéma, plaies Douleurs postpartum Expectorant
Araceae	<i>Arum italicum</i> Mill.	Avqouq	Tubercules	Broncho-pneumopathies (bronchite, rhume, grippe, toux) Douleurs ostéo-articulaires Furoncle, Fortifiant
	<i>Arisarum vulgare</i> Targ.-Tozz.	Thavqouqth	Tubercules	Constipation
Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.	Avoudjafal, Adafal Leblab, luway	Feuilles	Affections respiratoires
Aristolochiaceae	<i>Aristolochia longa</i> L.	Berestem Thighersi guiger	Racines	Néphropathies Fibrome, kystes ovariens Stérilité féminine Troubles digestifs (anorexies, nausées, vomissements, diarrhées), ulcères gastriques Hémorroïdes Ictère, abcès dentaire, escarre infecté, anémie, blessures
	<i>Aristolochia altissima</i> L.	Kif laelma Tara tazidant Taskarchitss	Feuilles Fruits	Troubles digestifs (anorexies, nausées, vomissements, diarrhées)
Agavaceae	<i>Agave americana</i> L.	Sebara	Feuilles charnues	Brûlures, cancers dermiques, eczéma Fortifiant
Asparagaceae	<i>Asparagus officinalis</i> L.	Iskim Sekoum	Rhizome et racines	Néphropathies Reminéralisant

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
	<i>Scilla maritima</i> L.	Ikfil, oukhfiy Leysel bouchen Thafaraante Chamira Sourendjan	Bulbe	Asthme Varices Gale
Asphodelaceae	<i>Asphodelus microcarpus</i> Salzm. et Viv.	Avarwaq	Parties aériennes	Teignes, mycoses
	<i>Aloe vera</i> (L.)Burm.f.	Usbar Elmor we sebar	Feuilles charnues	Eczema, plaies, abcès
Asteraceae	<i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) Cass.	Tiguentess	Feuilles	Aphrodisiaque
	<i>Anthemis nobilis</i> L. (= <i>Chamaemelum nobile</i> (L.) All.	Wamlal Babonj	Sommités fleuries	Anxiété, insomnies, allergie, soins de visage Maux de tête, migraine Gastralgies, hémorroïdes, carminatif Stéatose hépatique
	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Tejra n meryem Chedjeret meryem Chiba	Plante entière	Obésité, diabète, dorsalgie, kystes ovariens, troubles hormonaux, fertilité, eczéma Troubles digestifs (gastralgies, nausées, vomissements, anorexie, diarrhée)
	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.	Chih		Troubles gastro-intestinales Intoxication alimentaire Dysménorrhée, diabète
	<i>Atractylis gummifera</i> L.	Adadh Chouk el eulk	Racines	Hydrocéphalie, malformations congénitales, retard à la marche Douleurs articulaires et musculaires, grippe, maux de tête, vertige, blessures
	<i>Carthamus caeruleus</i> L.	Amarsgous	Racines	Cicatrisation des blessures
	<i>Centaurea montana</i> L.	Thaga lakhla	Raciness	Hypertension, Cholestérol, diabète Diarrhée, gastralgies Grippe, brûlures Hydrocéphalie, malformations congénitales
	<i>Chrysanthemum myconis</i> L.	Aghdou bwakli Wazdouz	Feuilles	Reminéralisant
	<i>Cichorium intybus</i> L.	Thimerzouga	Feuilles	Tonique, cholagogue, dépuratif, laxatif
	<i>Chrysanthemum segetum</i> L.	Ouazdhouz	Plante entière	Soins capillaires
	<i>Cynara cardunculus</i> L.	Thaga	Feuilles	Colopathies, constipation, indigestion, gastralgie Hypertension, cholestérol Diabète, mal de transport, toux Rhumatisme

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
	<i>Dittrichia viscosa</i> L. Greuter	Amagramane	Feuilles	Ulcère gastrique, diarrhée, hémorroïdes, diabète Toux, rhinite allergique Arthralgies, fractures, dorsalgie Infections gynécologique externe Eczéma, blessures, dermatophytoses, alopecie, aphtes, lithiase rénale
	<i>Erigeron canadensis</i> L.	Afjdhadh	Feuilles	Fièvre, anorexie
	<i>Galactites tomentosa</i> (L.) Moench	Assenan Boughyoul Chouk elhamir	Tiges	Vers intestinaux
	<i>Hypochoeris laevigata</i> (L.) Ces. Pas. et Gi.	Ziglmoum	Feuilles	Immunisant
	<i>Picris echioides</i> L.	Halafa	Feuilles	Plaies et blessures
	<i>Pulicaria odora</i> (L.) Rchb.	Amzogh guilef, imji guilef, sielmeksa	Feuilles	Ulcère gastrique, troubles digestifs Malformation congénital du thorax
	<i>Scolymus hispanicus</i> L.	Thaghediwth Guerenina	Feuilles	Indigestion, grippe, fortifiant
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Thifaf	Feuilles	Gastralgies, diabète, eczéma, obésité
	<i>Taraxacum laevigatum</i> DC.	Thughmasse temgharth	Feuilles	Obésité
Boraginaceae	<i>Borago officinalis</i> L.	Chikh levqoul Lsan thawr	Feuilles Sommités fleuries	Toux, grippe, expectorant Cicatrisant, anémie
	<i>Cerithe major</i> L.	Ayefki Taghyoult	Feuilles	Rhumatisme
Brassicaceae	<i>Brassica amplexicaulis</i> (Desf.) Pomel	Achinaf	Feuilles	Maux de tête, vertiges
	<i>Brassica napus</i> L.	Lefth	Racine	Brochite, toux
	<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.	Iles t'Zarmoumouchth	Feuilles	Epistaxis
	<i>Lepidium sativum</i> L.	Hebrchad Elharf	Feuilles	Arthrose, rhumatisme, fractures Anémie, asthme, insomnie Infections urinaires, fortifiant, colopathies Alopecie, furoncle
	<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.	Garninouche Tahchichth igourdhan	Feuilles	Nausées, vomissements, gastralgies
Cactaceae	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	Kermouss Hindi	Feuilles charnues	Diarrhée, gastralgies, intoxication alimentaire Alopecie Lithiase rénale
Caprifoliaceae	<i>Fedia cornucopiae</i> (L.) Gaerth.	Tinimathine Tizmamaguine	Feuilles	Anorexie Cardiopathies

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
		Teqejjirin tsekkurt		
	<i>Lonicera etrusca</i> Santi	Anaraf, ifer tayten	Feuilles	Toux
Caryophyllaceae	<i>Paronychia argentea</i> (Pourr.) Lamk.	Tagarhit nenvi Latay boudrar Fetat lahdjar	Feuilles, sommités fleuries	Lithiase rénale, hypercholestérolémies, anorexie Grippe
	<i>Silene inflata</i> (Salisb.) Sm.	Tighighache	Plante entière	Anoréxie
Cistaceae	<i>Cistus monspeliensis</i> L.	Thouzalt	Parties aériennes	Diabète Cataracte
	<i>Cistus salviifolius</i> L.	Thouzalt ouroumi	Parties aériennes	Douleurs gastro-intestinales
	<i>Helianthemum</i> sp	Thasghart	Parties aériennes	Troubles digestifs
Convolvulaceae	<i>Convolvulus althaeoides</i> L.	Amatssay	Fleurs	Troubles digestifs
Cucurbitaceae	<i>Bryonia dioica</i> Jacq.	Tara, telmimun	Racines et fruits	Purgatif, blessures
	<i>Ecballium elaterium</i> Rich.	Afqous Bouaghyoul, faqous Lahmir	Fruits	Ictère
	<i>Citrullus colocynthis</i> Schrad.	Hendhel	Fruits	Rhumatisme
	<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	Dellaa Betikh	Fruits	Lithiase rénale
	<i>Cucumis sativus</i> L.	Lakhyar	Fruits	Carminatif Sécheresse cutanée
	<i>Luffa aegyptiaca</i> Mill.	Lahvel	Fruits	Diabète
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Bestane sarw	Feuilles, Fruits	Hémorroïdes, rage dentaire
	<i>Juniperus communis</i> L.	Araar, thaqqa	Feuilles, fruits	Lithiase rénale, pathologies de la prostate Ulcère gastrique, amaigrissements, maux de tête, dépuratif, pellicule
Cyperaceae	<i>Cyperus esculentus</i> L.	Hab elaaaziz	Fruits	Anémie, anorexie, douleurs osseuses
Equisetaceae	<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	Vouymezzran	Plante entière	Diabète Alopécie
	<i>Equisetum arvense</i> L.	Vouymezzran	Plante entière	Favorise la circulation sanguine Arthrose Douleurs lombaires
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i> L.	Assisnu	Racines	Arthrose, hémorroïdes, cancers Diarrhée, anémie Pathologies de la prostate
	<i>Erica arborea</i> L.	Akhlenj	Fleurs	Lithiase rénale, pathologies de la vessie et de la prostate Gastralgies
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	Ayefki teghyoult	Latex	Verrues, clou plantaire, dermatophytoses

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
		Helib daba		
Fabaceae	<i>Anagyris foetida</i> L.	Akharuv el-mays Ufni	Feuilles et graines	Constipation
	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Karoub Akharuv	Fruits et graines	Gastralgies, colopathies, diarrhée, vomissements, anorexie Toux, angine, infections ORL Rhumatisme, arthrose, verrues, eczéma, dermatophytoses
	<i>Cicer arietinum</i> L.	Elhemess	Fruits	Ictère
	<i>Calycotome spinosa</i> (L.) Lamk.	Azzou	Parties aériennes	Furoncle, clou plantaire, plaies
	<i>Cassia angustifolia</i> Vahl	Sana elmakki	Feuilles	Constipataion
	<i>Cytisus triflorus</i> L'Herit	Ilgoui	Feuilles	Hémorroïdes, cicatrisant
	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Aseghar azidhan Aark essousse	Racines	Carie dentaire Hypertension
	<i>Lupinus angustifolius</i> L.	Ivawen guilef	Fruits	Soins du visage, diabète, cholestérol, anorexie
	<i>Trigonella fenum-graecum</i> L.	Elhelba Thifidhass	Fruits	Anémie, fortifiant, anorexie, amaigrissement, vomissements Arythmie, insomnie, fièvre Alopécie, cancer, goitre, œdème des membres inférieurs
Fagaceae	<i>Quercus robur</i> L.	Akherouch Aveloudh Ballout	Cupules	Hypotenseur, polyurie, hémorroïdes Gastropathies, colopathies, carminatif
Fumariaceae	<i>Fumaria officinalis</i> L.	Zalamit bumechich Buzruren	Sommités fleuries	Dépurative
Gentianaceae	<i>Centaurium erythrea</i> Rafn	Qlilou	Feuilles, fleurs	Diabète
Globulariaceae	<i>Globularia alypum</i> L.	Tasselgha	Plante entière	Dépurative, hypertension Vertiges, maux de tête
Juglandaceae	<i>Juglans regia</i> L.	Ajouj	Ecorce Racines	Alopécie, migraine Aphtes, gingivite, carie dentaire
Lamiaceae	<i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb.	Chendkoura	Parties aériennes	Diabète, hypertension Arythmie, troubles digestifs (diarrhée, nausées, vomissements, anorexie) Gastropathies, abcès dentaire Antispasmodique, vermifuge, dépuratif
	<i>Ballota nigra</i> L.	Amamouy	Parties aériennes	Troubles digestifs
	<i>Lamium</i> sp	Thouchanine	Feuilles	Amélioration de la vision
	<i>Lavandula stoechas</i> L.	Amezir	Sommités fleuries	Troubles digestifs (diarrhée, indigestion, gastralgies, colopathies) Affections respiratoires (rhume, angine, toux)

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
				Asthénie, insomnie, anorexie, hypertension, épilepsie, Alzheimer, pathologies de la prostate, anxiété, infections génito-urinaires, mal de dents, dorsalgies
	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Marnouyth, tirzaganine	Plante entière	Troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée, anorexie, gastralgies) Asthénie, vertiges, congestion nasale, anorexie Malformations congénitales, emménagogue, cholagogue
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Felyu	Feuilles	Rhume, tous, maux de gorge, bronchite
	<i>Melissa officinalis</i> L.	Ifer t'Zizoua	Feuilles	Grippe, rhume, épistaxis, colopathies, anxiété, dermatose psychosomatique, désodorisant
	<i>Mentha viridis</i> L.	Nânâ	Feuilles	Troubles digestifs, calmant nerveux
	<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh.	Thimijja	Feuilles	Sciatique, arthrose, fracture, aphtes Mal de tête, infections génito-urinaire, cancer dermique
	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lehvaq	Feuilles	Indigestion Insomnie, vertiges, maux de tête, conjonctivite, maux de gorge, angoisse
	<i>Origanum vulgare</i> L.	Zaâthar	Feuilles	Dermatophyties, allergie, toux Maux de tête, grippe Gastralgies, cholestérol, stéatose hépatique, Anémie, arythmie, insomnie
	<i>Phlomis bovei</i> de Noé.	Thikheyadhine	Feuilles	Blessures, brûlures, ulcère gastrique
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Amezir	Sommités fleuries	Toux, rhume Anorexie, diarrhée, colopathie, douleurs digestives, Gingivite, anxiété, amnésie, migraine, sciatique, dysménorrhée, arythmie, alopecie, asthénie, stérilité Brûlures
	<i>Salvia officinalis</i> L.	Agourim Swak enbi	Feuilles	Gastralgies, cholagogue, cholestérol Insomnie, aphtes Rhume, toux Stérilité, dysménorrhée, emménagogue
	<i>Salvia verbenaca</i> (L.) Briq.	Thinezloufine	Feuilles	Complications due à la persistance de vernix caseosa chez le nouveau né
	<i>Satureja hortensis</i> L.	Latay lakhla	Feuilles	Grippe
	<i>Satureja montana</i> L.	Tasgharth tafuhant	Feuilles	Urticaire
	<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Thahchichth n djurdjura	Plante entière	Diarrhée

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
	<i>Teucrium scorodonia</i> L.	Eljooda	Feuilles	Colopathies
	<i>Thymus numidicus</i> Poiret	Thizaathrin	Parties aériennes	Syndrome grippal, toux Indigestion Brûlures, douleurs articulaires
	<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Kef maryem	Feuilles	Augmente la fertilité, dysménorrhée, troubles hormonale Rhumatisme,, goitre, maux de tête Gastropathies
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	Rend	Feuilles Graines	Syndrome grippal, toux Hypertension Indigestion, Cataracte, Anxiété
Linaceae	<i>Linum corymbiferum</i> Desf.	Thahchichth bustardhaq	Graines	Furoncle
	<i>Linum usitatissimum</i> L.	Kettan	Graines	Cholestérol, diabète, obésité, alopecie Constipation,, colopathies, vomissements, carminatif, fortifiant
Lythraceae	<i>Lawsonia inermis</i> L.	Elheni	Feuilles	Maux de tête, alopecie, abcès dentaire Cancer du sein, fortifiant
	<i>Punica granatum</i> L.	Remane	Ecorce du fruit	Gastralgies, ulcère, d'estomac, colopathies, diarrhée Fatigue, RGO, affections de la gencive, anémie
Malvaceae	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Karkadia	Fruits	Hypertension, arythmie Fortifiant
	<i>Malva sylvestris</i> L.	Mejjir Khobiz	Feuilles	Oreillons Broncho-pneumopathies
	<i>Tilia vulgaris</i> Hayne	Zayzafoun	Feuilles	Asthénie, anxiété
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Elbakhsis, lakhrif Karma	Fruits secs Latex	Troubles du transit, hémorroïdes, toux, arthrose, Verrues, clou plantaire,
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Kalitous azidan	Feuilles	Broncho-pneumopathies (rhume, toux, bronchite, congestion des voies respiratoires, asthme) Maux de tête, antispasmodique, alopecie, hémorroïdes
	<i>Myrtus communis</i> M.	Chilmoune Rihan	Feuilles	Diabète, hypertension, anxiété Troubles digestifs (diarrhée, vomissements, ballonnements, constipation, gastralgies) Affections respiratoires (rhume, mal de gorge), hémostatique, fortifiant
	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry	Koronfol	Bouton floral	Aphtes, rage dentaire Colopathies, asthme, toux, fièvre, alopecie, hypertension
Oleaceae	<i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl.	Aslen	Graines	Hypertension, colopathies, clou plantaire, furoncle

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
		Dardar		
	<i>Olea europea</i> var <i>sylvestris</i>	Ahechadh	Feuilles	Hypertension, vomissements, anorexie, grippe Diabète Candidoses buccales, aphtes, eczéma Maux de tête, cardiopathies
	<i>Phillyrea angustifolia</i> L.	Thametwala	Feuilles	Blessures Anémies
Orchidaceae	<i>Orchis italica</i> Poiret	Thihaythine	Tubercules	Aphrodisiaque Fortifiant
Papaveraceae	<i>Papaver rhoeas</i> L.	Djehvoudh Ben naman	Fleurs	Anxiété, insomnie Ictère, toux
Pedaliaceae	<i>Sesamum indicum</i> L.	Jeljlan	Graines	Anorexie Reminéralisant, fortifiant
Pinaceae	<i>Pinus halepensis</i> Mill.	Snobar Azoumbi	Résine	Bronchite, asthme, toux, grippe Rhumatisme, vertige, hémorroïdes, furoncle
Piperaceae	<i>Piper nigrum</i> L.	Ifefel avarkan	Graines	Congestion nasale, grippe Cancer
Plantaginaceae	<i>Anarrhinum pedatum</i> Desf.	Thahchichth tmagarth	Feuilles	Nausées, vomissements, diarrhée, anorexie
	<i>Plantago lanceolata</i> L.	Lisan el heml Ich oumaaiz Amzogh baghadh	Feuilles	Mal de dents Blessures Diarrhée
Poaceae	<i>Arundo donax</i> L.	Aghanim	Tiges	Toux, mal de gorge, furoncle
	<i>Avena sativa</i> L.	Aqartan	Fruits	Anxiété, eczéma
	<i>Elymus repens</i> (L.) Gould	Affar	Rhizome	Hémorroïdes, colopathies Douleurs mictionnelles
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Thimzine	Graines	Colopathies Douleurs osseuses, fracture Amaigrissements
Polygonaceae	<i>Polygonum aviculare</i> L.	Msenger mazir Admu	Parties aériennes	Ulcère gastrique, colopathies Blessure
	<i>Rumex acetosa</i> L.	Tasemumth gigdhadh	Feuilles	Troubles digestifs
	<i>Rumex conglomeratus</i> Murr.	Assemoum	Feuilles	Diarrhée, constipation, gastralgies Hémorroïdes Fortifiant, immunisant, toux
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Amarmour	Feuilles	Anémie, reminéralisant

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
Pteridaceae	<i>Adiantum Capillus-Veneris</i> L.	Tara ursenvzayen waman	Feuilles	Lithiase rénale Incontinence urinaire, douleurs mictionnelles
Ranunculaceae	<i>Clematis cirrhosa</i> L.	Thouzimthe	Feuilles	Puces, boutons de cuir chevelu dû au coup de soleil
	<i>Clematis flammula</i> L.	Azanzou	Feuilles	Rhumatisme, abcès dentaire
	<i>Nigella damascena</i> L.	Hebbasawda	Graines	Fortifiant, goitre, anxiété, grippe Cancer dermique, impuissance sexuelle Rhumatisme, alopecie
	<i>Nigella sativa</i> L.	Sanouj, zraraa	Graines	Arythmie, colopathie, toux
Rhamnaceae	<i>Rhamnus alaternus</i> L.	Mliles, Imliles	Feuilles	Ictère, anémie, affections du foie Douleurs mictionnelles, dépuratif
	<i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	Azegar Sedra	Fruits	Alopecie, fortifiant, carminatif
Rosaceae	<i>Agrimonia eupatorium</i> L.	Afouhan	Feuilles	Cataracte, conjonctivite, parasitose oculaire Troubles gastriques Toux, grippe, fièvre
	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Zaaror, idhmim	Fleurs	Hypertension, diabète Arythmie, anémie, furoncle, allergie, clou plantaire Troubles digestifs Asthme, toux
	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Ktunya	Fruits	Alopecie, cholestérol Diarrhée
	<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.	Malikat elmouroudj	Feuilles	Bronchite, rhume Gastro-intestinal, diarrhée, indigestion, carminatif Douleurs articulaires, rhumatisme, courbatures, goutte Diurétique, cystite Rage dentaire, maux de tête
	<i>Prunus cerasus</i> L.	Heb lemlouk Lisriz	Pédoncules des fruits	Hypertension
	<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A.Webb	Louz	Fruits	Toux
	<i>Prunus amygdalus</i> Stoker	Louz arzagan	Fruits	Diabète
	<i>Prunus mahaleb</i> L.	Mahleb	Fruits	Alopecie
	<i>Rosa canina</i> L.	Thaafarth	Fleurs	Rhumatisme Diarrhée, vomissement, anorexie
	<i>Rubus fruticosus</i> Linnaeus	Anajel, tizwal	Fruits	Broncho-pneumopathies (angine, rhume, toux) Hypertension, cancer, eczéma, Brûlures, dermatophytoses, galactagogue, fortifiant

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
	<i>Rubus ulmifolius</i> Schott.	Anjel, tizwal	Fruits	Troubles digestifs (nausées, vomissements, anorexie, diarrhée, gastralgies) Broncho-pneumopathies (angine, rhume, toux) Hypertension
	<i>Sanguisorba minor</i> Scop.	Marfaa lebla, thahchichth ighidh	Feuilles	Troubles digestifs (nausées, vomissements, anorexie, diarrhée, gastralgies) Brûlures, dermatophytoses, cancer, eczéma, galactagogue, fortifiant, ocytocique
Rubiaceae	<i>Rubia tinctorum</i> L.	Tharuvya	Feuilles	Sciatique, arthrose Anémie, hypertension, otalgie, érythème fessier du nouveau né Muguet buccal, aphtes Vomissements Syndrome grippal
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> L.	Larenj	Ecorce du fruit	Insomnie, syndrome grippal
	<i>Ruta montana</i> (Clus.) L.	Aouarmi L'fidjla	Parties aériennes	Troubles digestifs (diarrhée, nausées, vomissements, gastralgies, carminatif) Otalgies, lithiase rénale, vermifuge Affections respiratoires (congestion nasale, grippe) Malformations congénitales
Salicaceae	<i>Salix pedicellata</i> Desf.	Ismlél, ismyey	Feuilles	Hépatomégalie
Saxifragaceae	<i>Saxifraga</i> sp	Fetat lahdjar	Feuilles	Lithiase rénale, douleurs articulaires
Schisandraceae	<i>Illicium verum</i> Hook.f.	Nejmet lardh	Fruits	Colopathies Sevrage tabagique
Scrofulariaceae	<i>Verbascum sinuatum</i> L.	Mesheddar Tisirraw	Feuilles basales	Dorsalgies, cancer dermique Hémorroïdes
Smilacaceae	<i>Smilax aspera</i> L.	Askarchi	Feuilles	Troubles du sommeil, bourdonnement d'oreilles Troubles digestifs, Diarrhée
Solanaceae	<i>Hyoscyamus albus</i> L.	Bounarjuf	Fruits	Eczéma, blessure, abcès
Tamaricaceae	<i>Tamarix gallica</i> L.	Amemay	Feuilles	Anémie, gastralgie
Thymeleaceae	<i>Daphne gnidium</i> L.	Alezzaz	Feuilles	Blessures, ictère, vermifuge
Ulmaceae	<i>Ulmus campestris</i> L.	Ouymou, oulmou	Ecorce	Fractures
Urticaceae	<i>Urtica dioica</i> L.	Azegdouf	Racines	Rhumatisme, arthrose, goutte Hypertension, anémie, lithiase rénale, hémorroïdes, alopecie Diarrhée

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Utilisation recommandée
				Reminéralisant, immunisant
Verbenaceae	<i>Aloysia citriodora</i> Palau	Louiza Tizana	Feuilles	Indigestion, fatigue, dysménorrhée Ballonnement, Rhume, toux, angine
Violaceae	<i>Viola odorata</i> L.	Banafsedj	Parties aériennes	Colopathies
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L.	Adil, tizurin Aneb	Fruits	Erythème solaire, alopecie Veinoprotecteur
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i> L.	Korkom	Rhizome	Nervosité, colopathies, anémie Abscess dentaire Cancer
	<i>Elletaria cardamomum</i> (L.) Maton.	Heb el hil	Graines	Affections du foie Carminatif
	<i>Zingiber officinalis</i> Roscoe	Zandjabil Skenjibir	Rhizome	Nervosité, tonique Obésité, stéatose hépatique Constipation, carminatif Hypertension, hypercholestérolémie
Zygophyllaceae	<i>Peganum harmala</i> L.	Harmel	Parties aériennes	Stérilités, fortifiant Hémorroïdes Douleurs osseuses

Tableau 11 : Liste de plantes médicinales recensées à Ghardaïa.

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Parties utilisées	Usages thérapeutiques/affections traitées
Amaranthaceae	<i>Atriplex halimus</i> L.	El Guetteffe	Feuilles et fleurs	Cancers, kystes, fibrome
	<i>Hammada scoparia</i> (Pomel) Iljin	Remeth	Plante entière	Affections cardio-vasculaires, affections digestives Affections dermatologiques
Apiaceae	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss. et Dur.	Akamen	Partie aérienne	Troubles digestifs
	<i>Ferula vesceritensis</i> Coss. et Dur.	Kalkha	Fruits	Maux de tête
	<i>Pituranthos scoparius</i> (Coss. et Dur.) Benth. et Hook.	Guezah	Feuilles et fleurs	Affections digestives, affections génito-urinaires, affections neurologiques Affections ostéo-articulaires
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Defla	Feuilles	Douleurs dentaires, allergies
	<i>Pergularia tomentosa</i> L.	Quelqua	Racines, tige, feuilles Latex	Maladies digestives, maladies génitales, diabète,
Arecaceae	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Nakhela	Feuilles	Allergies
Asteraceae	<i>Anvillea radiata</i> Coss. et Dur.	Nogd	Parties aériennes	Indigestion
	<i>Artemisia campestris</i> L.	Degouft	Parties aériennes	Indigestion et règles douloureuses
	<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	Izeri	Parties aériennes	Troubles digestifs, affections du foie, affections respiratoires, cardiopathies et coliques, diabète, maladies articulaires
	<i>Calendula aegyptiaca</i> Desf.	Ain sefra	Plante entière	Affections dermatologiques
	<i>Echinops spinosus</i> L.	Fougaa el djemel	Racines	Hémorroïdes
	<i>Ifloga spicata</i> (Forsk.) Sch. Bip.	Zouadet lakhrouf	Parties aériennes	Lésions cutanées
	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	-	Parties aériennes	Troubles digestifs
Asparagaceae	<i>Asparagus acutifolius</i> L.	Sekkoum	Racine, tige, fruit	Affections digestives, affections génito-urinaires, affections dermatologiques Affections dermatologiques
Asphodelaceae	<i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.	Tazia	Plante entière	Indigestion, constipation Fièvre, anti-inflammatoire Condiment
Berberidaceae	<i>Berberis hispanica</i> Boiss. et Reut.	Oud elsefar	Racines	Cancers
Boraginaceae	<i>Borago officinalis</i> L.	Harcha	Parties aériennes	Affections respiratoires Affections génito-urinaires

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Parties utilisées	Usages thérapeutiques/affections traitées
	<i>Echium trygorrhizum</i> Pomel	El ouacham	Racines	Cosmétologie
Brassicaceae	<i>Moricandia arvensis</i> (L.) DC.	Krombe	Feuilles et tiges	Affections neurologiques Infections génitales
	<i>Oudneya africana</i> R. Br.	Henet el Ibel	Parties aériennes	Affections dermatologiques
	<i>Zilla spinosa</i> (L.) Prantl.	-	Parties aériennes	Affections digestives, affections respiratoires, affections génito-urinaires
Cactaceae	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	Tin	Suc des tiges	Hypercholestérolémie
Capparaceae	<i>Capparis spinosa</i> L.	Kebbar	Feuilles et fruits	Maladies respiratoires, maladies osseuses et articulaires, maladies neurologiques.
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i> L.		Feuilles	Gastrites Hémorroïdes
Cucurbitaceae	<i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrad.	Hadja Tadjelette	Fruit et graines Racines	Affections génito-urinaires, affections digestives Affections génito-urinaires, affections digestives Affections dermatologiques
	<i>Euphorbia retusa</i> Forsk.	Garraba	Latex	Morsures de scorpions, eczéma, verrues
Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i> L.	Kharoua	Graines	Constipation
Fabaceae	<i>Retama retam</i> Webb.	Retem	Rameaux	Dermatoses, maladies osseuses et articulaires Morsures de scorpions
	<i>Trignella fenum-graecum</i> L.	Tifidas	Graines	Anorexie, diabète
Iridaceae	<i>Crocus sativus</i> L.	Zefran	Etamines	Affections cardiaques
Lamiaceae	<i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb.	Toutoulba	Feuilles	Diabète
	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Kousber	Graines	Ballonnements
	<i>Lavandula officinalis</i> L.	Elkouzama	Parties aériennes	Affections respiratoires, grippe, affections cardiaques, stress, névroses
	<i>Mentha spicata</i> L.	Naanaa	Feuilles	Troubles digestifs, douleurs osseuses et articulaires, obésité, névroses, affections respiratoires
	<i>Origanum majorana</i> L.	M'loul	Feuilles	Troubles digestifs, fièvre, maladies respiratoires
	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Hebeg	Feuilles et fleurs	Affections digestives, affections neurologiques
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Iklil eldjabal Lazir	Feuilles	Grippe, affections ostéo-articulaires, Paralyse faciale
	Lythraceae	<i>Lawsonia inermis</i> L.	Henna	Feuilles
<i>Punica granatum</i> L.		Rouman	Ecorce du fruit	Maladies d'estomac, cardiopathies et maladies vasculaires Cosmétologie
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Kalitous	Feuilles	Grippe, toux, fièvre

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Parties utilisées	Usages thérapeutiques/affections traitées
	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry	Krounfoul	Bouton floral	Douleurs articulaires Douleurs dentaires
Orobanchaceae	<i>Cistanche phelipaea</i> (L.) P. Cout.	Danoun	Plante entière	Troubles digestifs
Pinaceae	<i>Pinus halepensis</i> L.	Taida (debagha)	Feuilles et tiges	Coliques, diarrhées Affections dermatologiques
Plantaginaceae	<i>Plantago cilita</i> Desf.	Lalma	Plante entière	Blessures, plaies, ulcères
Poaceae	<i>Panicum turgidum</i> Forssk.	El Bechena	Graines	Maladies osseuses et inflammatoires, stimulation du système immunitaire
	<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (L.) Spreng.	Lemmad	Fruits	Affections digestives, maladies inflammatoires, affections ostéo-articulaires
	<i>Linum usitatissimum</i> L.	Ketan	Fruits	Eczéma
	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	Nedjem	Tiges	Affections ostéo-articulaires Affections génito-urinaires
	<i>Stipagrostis pungens</i> (Desf.) De Winter = <i>Aristida pungens</i> Desf.	Drinn	Tiges	Affections digestives Affections dermatologiques
Urticaceae	<i>Parietaria officinalis</i> L.	Fetat el hedjar	Feuilles	Affections génito-urinaires
Verbenaceae	<i>Verbena officinalis</i> L.	Tizana	Feuilles	Otites, névroses
Resedaceae	<i>Randonia africana</i> Coss.	Godom Tegtag	Feuilles	Piqures de scorpion
	<i>Reseda villosa</i> Coss.	Babous lakhrouf	Parties aériennes	Troubles digestifs
Rhamnaceae	<i>Ziziphus lotus</i> (L.) Desf.	Cedra	Racine, Feuilles et fruit Feuilles et fleurs	Affections respiratoires, affections génito-urinaires, affections digestives, affections ostéo-articulaires Affections dermatologiques
Rosaceae	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	Mechemach	Graines et feuilles	Irritation cutanée Migraines
Solanaceae	<i>Solanum nigraum</i> L.	Ain edib	Tiges et feuilles	Tumeurs, affections digestives Affections dermatologiques, affections ostéo-articulaires
Santalaceae	<i>Osyris alba</i> L.	Teguetag Khayata	Tige et feuilles	Morsures de scorpions
Zingibearaceae	<i>Zingiber officinalis</i> Roscoe	Zanjabil	Rhizome	Obésité, fièvre, troubles digestifs Maladies internes
Tamaricaceae	<i>Tamarix aphylla</i> (L.) Karst.	Athil Takait	Gale et feuilles	Affections digestives Affections dermatologiques, cosmétologie

Famille	Espèce	Nom vernaculaire	Parties utilisées	Usages thérapeutiques/affections traitées
Zygophyllaceae	<i>Peganum harmala</i> L.	Themrine	Fruits et graines	Maladies osseuses et articulaires Rhumatismes Maladies inflammatoires, affections génito-urinaires, affections métaboliques, affections neurologiques, affections respiratoires
	<i>Zygophyllum geslini</i> Coss.	Agaia	Fruit	Affections digestives, affections métaboliques

Systématique et classement des familles de plantes médicinales utilisées

A l'issue de cet inventaire, nous avons recensé 229 plantes à usage médicinal, et appartenant à 81 familles botaniques. Les plus importantes sont les Asteraceae (représentées par 26 espèces), les Lamiaceae (25 espèces), les Apiaceae (13) les Rosaceae (13), les Fabaceae (10), les Poaceae (09), les Brassicaceae (08), les Cucurbitaceae (06), les familles des Amaryllidaceae et des Ranunculaceae (04) sont présentes avec 4 plantes. Enfin, les familles restantes comportent 1 à 3 espèces chacune (Figure 18).

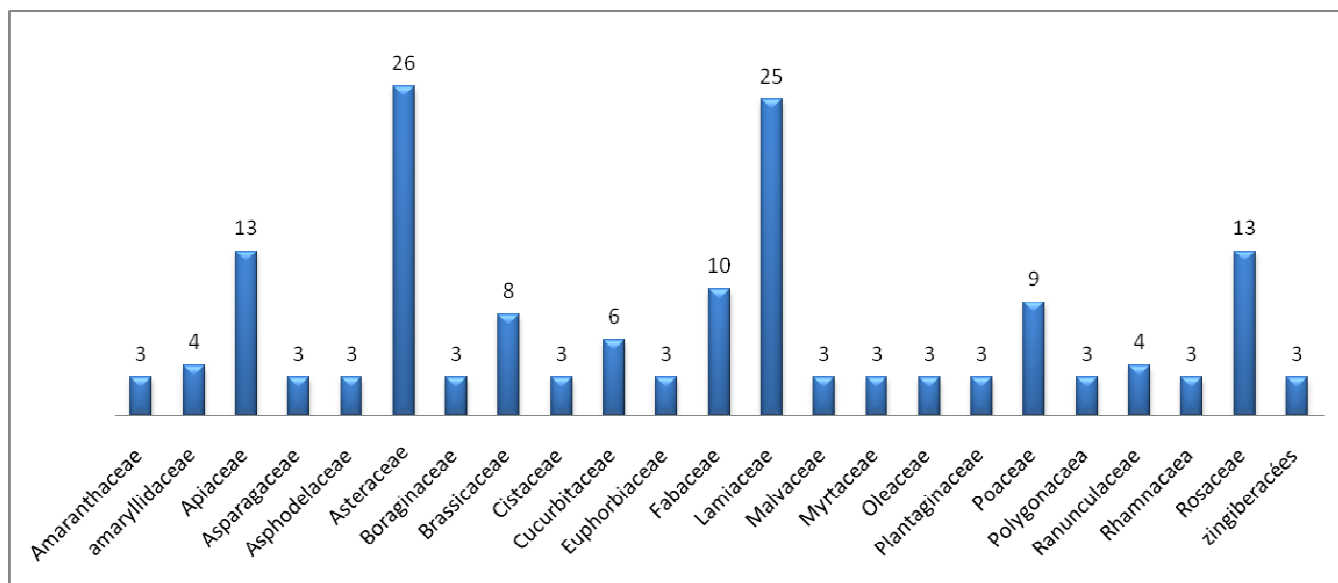


Figure 18 : Importantes familles utilisées selon le nombre d'espèces médicinales.

Population interviewé

L'un des aspects les plus intéressants de ce travail est de réunir le maximum de connaissances de la flore médicinale. Pour cela, nous n'avons pas pris en considération dans l'échantillon interviewé le sexe, ou le statut social comme le préconise le projet Rubia, qui concerne 7 pays du bassin méditerranéen (González-Tejero et al., 2008). La répartition selon l'âge est représentée dans la figure suivante :

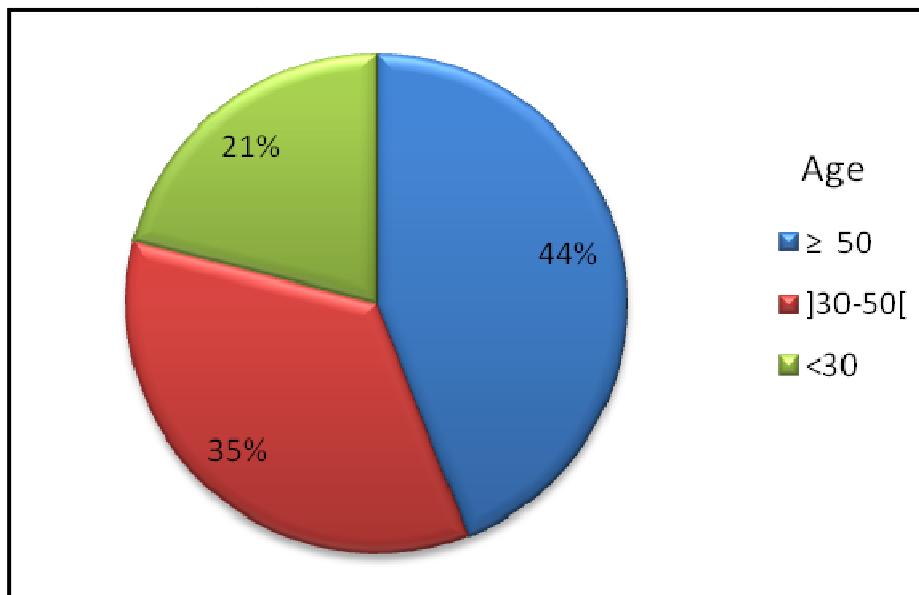


Figure 19 : Répartition de la population interviewée selon l'âge.

Modes d'administration et de préparation

Les modes de préparations suivants sont les plus préconisés : infusion (43%), décoction (19%), macération (14%) avec l'eau comme véhicule dans la majorité des cas (Figure 20).

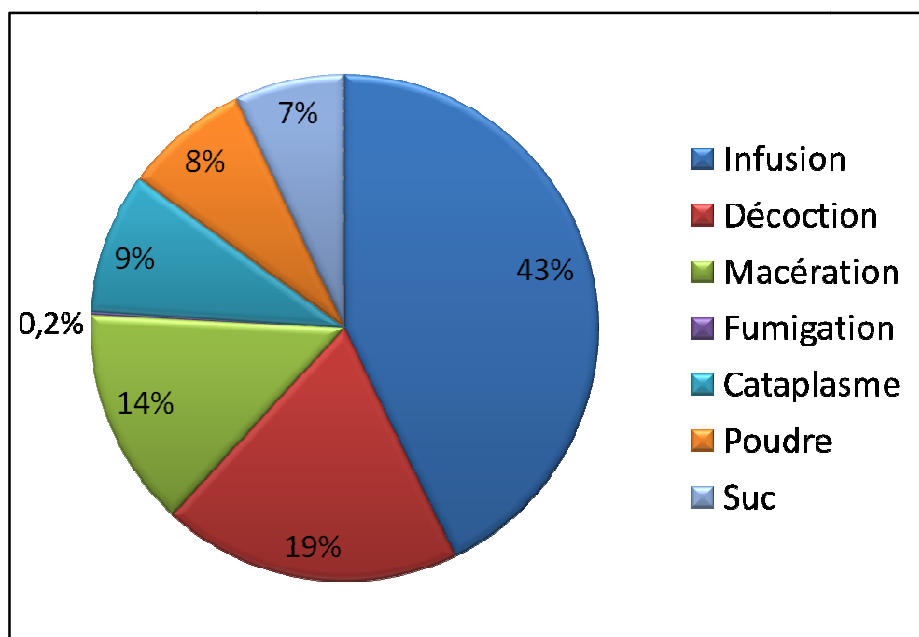


Figure 20 : Répartition des plantes utilisées selon le mode de préparation.

Parties de plantes utilisées

L'enquête révèle que les parties de plantes utilisées par ordre décroissant sont : les feuilles (42%), les fruits (15%), les parties aériennes (14%), les racines (12%), les graines (8%), la plante entière (5%), et les fleurs et boutons floraux (4%).

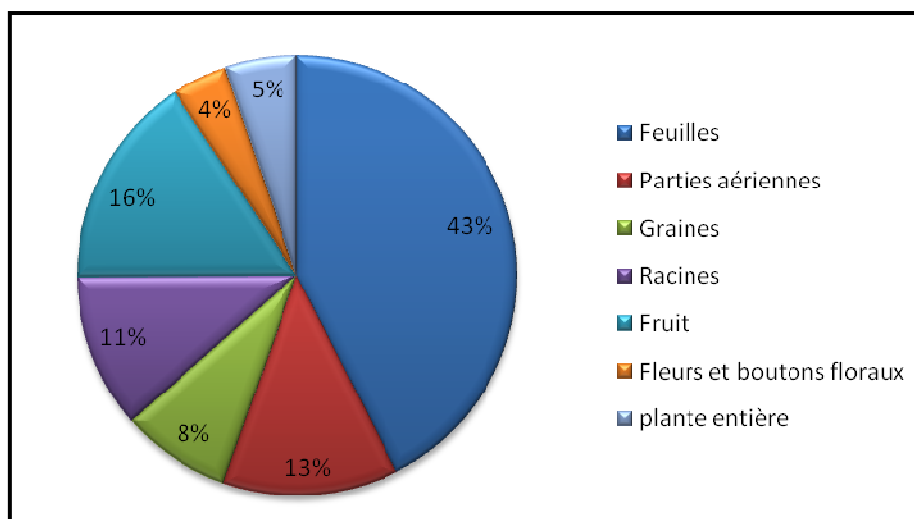


Figure 21 : Répartition des plantes utilisées selon les parties utilisées.

Pathologies traitées

La pathologie digestive (troubles digestifs, maux d'estomac, etc) est la pathologie la plus traitée (28%). Viennent ensuite, les autres pathologies qui répondent bien aux traitements par les plantes médicinales à savoir : les pathologies de la peau (17%), métaboliques (10%), broncho-pulmonaires (9%) (Grippe, toux, rhume, etc), les pathologies du système urinaire et de la sphère gynécologique (9%), les pathologies squelettiques et musculaires (rhumatismes, dorsalgies, etc) (8%), les pathologies du système nerveux (maux de tête, anxiété, etc) (5%), du système cardio-vasculaire et sanguin (3%), et les maladies inflammatoires (3%) (Figure 22).

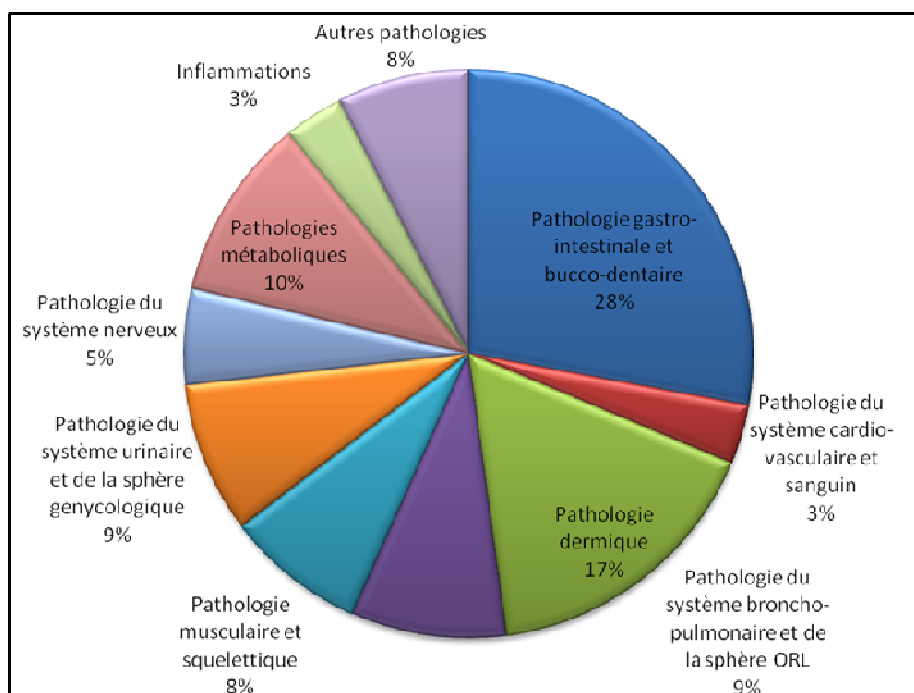


Figure 22 : Répartition des plantes utilisées selon les pathologies traitées.

II. Choix des plantes étudiées

La sélection des espèces végétales est la première étape d'une étude botanique, phytochimique et biologique. Elle doit être assurée avec soin pour assurer le succès du travail entrepris par la suite. Les critères suivants nous ont guidés lors de la récolte de plantes :

Ethnobotanique

Après analyse des enquêtes ethnobotaniques et une recherche bibliographique approfondie des plantes recensées, nous avons tirés les espèces végétales les plus utilisées par les populations locales et les moins étudiées. Puis un screening phytochimique a été réalisé, les extraits qui ont présenté un profil phytochimique riche en métabolites secondaires sur CCM ont été retenus. La plante sélectionnée sur cette base était *Asphodelus tenuifolius* Cav. pour une étude botanique, phytochimique et biologique.

Chimiotaxonomie

Une intense recherche a été menée depuis plus de 90 ans sur les saponines réputées pour avoir de nombreuses propriétés pharmacologiques. La présence de cette classe chimique dans le genre *Bupleurum*, dont les nombreux emplois traditionnels de ce genre sont répandus dans le monde, en fait un marqueur chimiotaxonomique de valeur. Une espèce du même genre ou de la même famille aura plus de chances de se révéler également prometteuse sur le plan

phytochimique et biologique. Dans cet optique, *Bupelurum spinosum* Gouan. a été sélectionnée pour une étude botanique, phytochimique et biologique.

II. Etude botanique

II.1. Etude morphologique

II.1.1. *Asphodelus tenuifolius* Cav.

II.1.1.1. Appareil végétatif

Plante herbacée annuelle de 15 à 50 cm de hauteur. Scape nue, scabre à la base, rarement lisse et sans vraie tige aérienne. Le système racinaire est fasciculé, il est constitué de racines fines de couleur marron clair.

Feuilles prenant naissance à la base, simples, entières, cylindriques creuses, linéaires, aiguës au sommet, dilatées à la base en une gaine blanchâtre, n'atteignant pas 20 cm de long, de 0.5 à 5 mm de diamètre, scabres sur les nervures et à nervations parallèles.



Figure 23 : *Asphodelus tenuifolius* Cav. dans son milieu écologique (Photo Dahmoune, 2017)



Figure 24 : Port général d'*Asphodelus tenuifolius* Cav (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 25 : Racines d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. (Photo Dahmoune).



Figure 26 : Feuille d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. (Photo Cherchali, 2019).

II.1.1.2. Appareil reproducteur

Inflorescence : les fleurs sont portées au sommet de longues hampes, dressées, généralement articulées sous le milieu, ou parfois, un peu au-dessus. Elles sont regroupées en grappes.

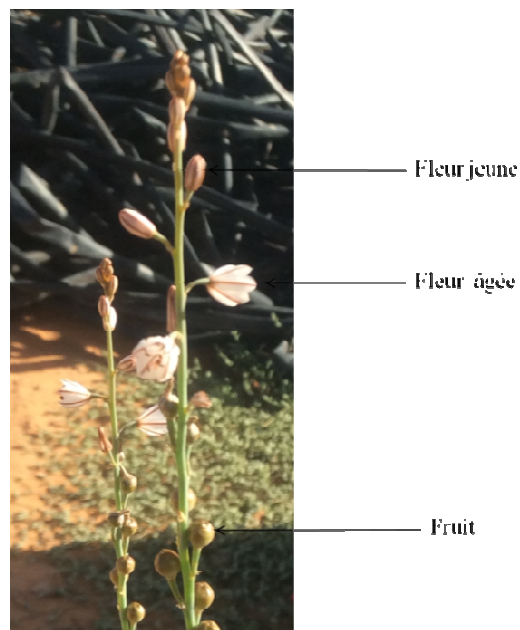


Figure 27 : Inflorescence d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. (Photo Dahmoune, 2017).

Fleur : à pédoncule articulé de 4 à 6 mm de long, avec une bractée scarieuse à la base.

- Péricorolle : comprend des tépales pétaloïdes au nombre de 6 sur deux verticilles, libres, de 3 à 6 mm de long, blanc à rose pâle. Chaque tépale a une seule nervure centrale brun rougeâtre.
- Androcée : diplostémone, comprend deux verticilles de 03 étamines libres, de 3 à 3.5 mm de long, à filet dilaté et plumeux à la base, dorsifixe. L'anthère est à déhiscence longitudinale introrse.
- Gynécée : isomère, constitué d'un ovaire infère à trois carpelles soudés biovulés, à ovules anatropes, en placentation axile. Style à stigmate trilobé.

La fleur est homoïochlamyde, trimère, actinomorphe, hypogyne, cyclique, bisexuée et respecte la loi d'alternance et d'isométrie.

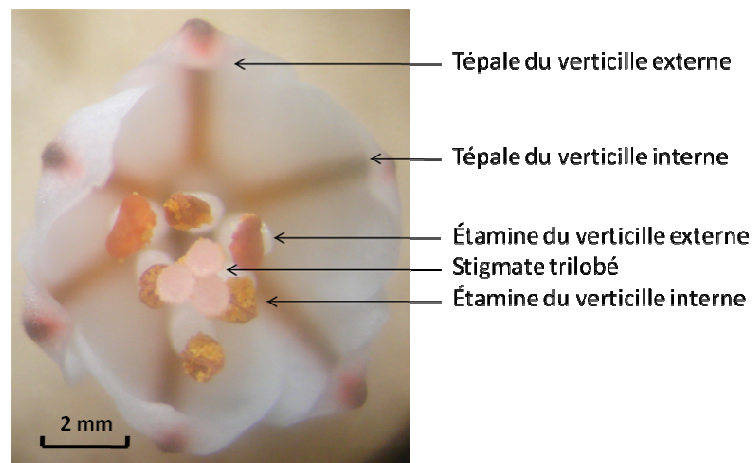


Figure 28 : Fleur d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. (Photo Dahmoune, 2017).

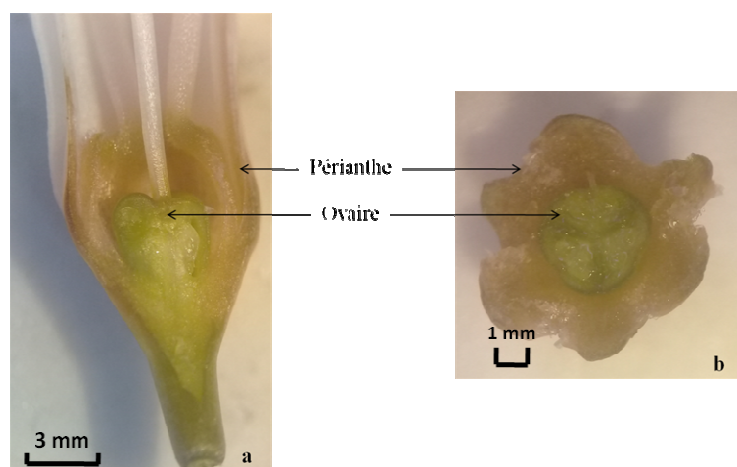


Figure 29 : a. Coupe longitudinale au niveau de la fleur d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. vue à la loupe binoculaire. b. Coupe transversale au niveau de la fleur d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. vue à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).

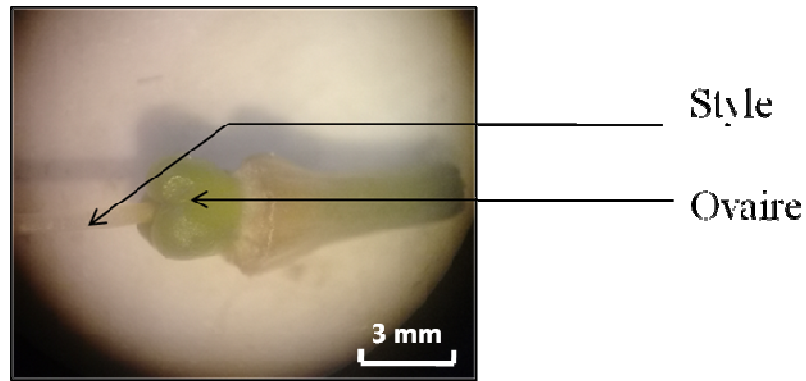


Figure 30 : Gynécée d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. vu à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).

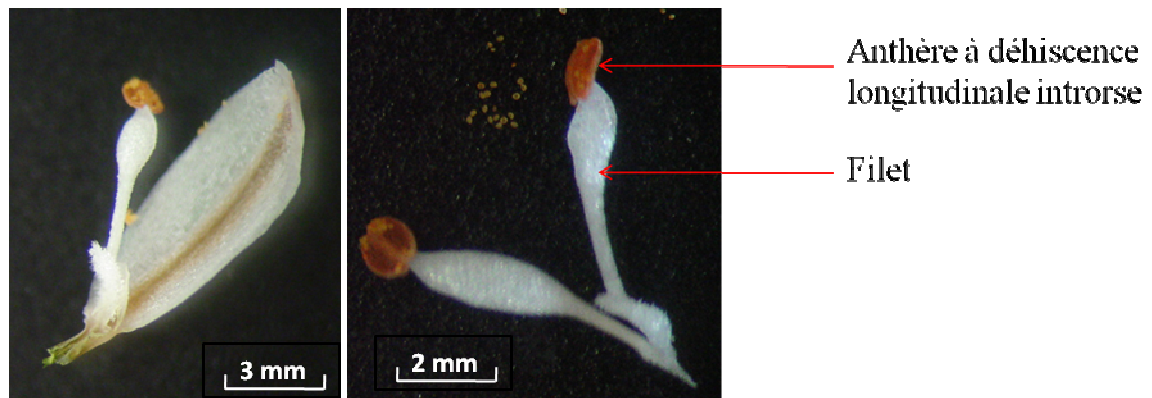


Figure 31 : Etamine d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. vue à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).

Fruit : Capsule de 3 à 4 mm de diamètre, globuleuse, loculicide.

Graine : de 3 mm de diamètre, triquètre, plissée et noirâtre.



Figure 32 : Capsule d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. vue à la loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2017).

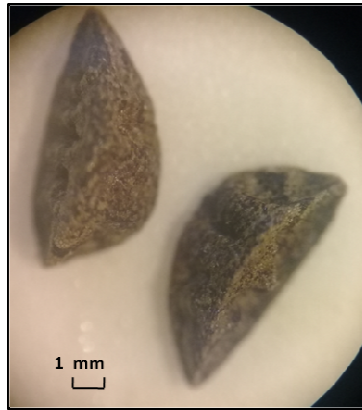


Figure 33 : Graines plissées d'*Asphodelus tenuifolius* Cav. vues à la loupe binoculaire (photo Dahmoune, 2017).

Formule floral

$$FF : \oplus, \underbrace{(3+3) T}, \underbrace{(3+3) E}, \underbrace{(3C^3_2)}; \text{capsule}$$

Diagramme floral



Figure 34 : Diagramme floral d'*A. tenuifolius* Cav (Photo Dahmoune, 2017).

Conclusion florale : la fleur est cyclique, homoïochlamyde, dialytépale, actinomorphe, trimère, bisexuée, diplostémone et hypogyne. Ces caractères floraux correspondent à la famille des Asphodelaceae, ordre des Asparagles, Monocotylédones.

II.1.1.3. Analyse du grain de pollen

L'étude microscopique du pollen d'*A. tenuifolius* Cav. a montré un grain de pollen de couleur orange, d'environ 70 µm, avec ornementation réticulée et une ouverture unique de type sillon.

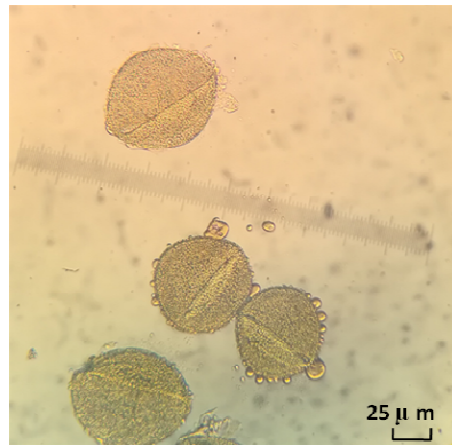


Figure 35 : Grains de pollen d'*A. tenuifolius* Cav. observés au microscope optique au G 40 X 10 (Photo Cherchali, 2019).

II.1.2. *Bupleurum spinosum* Gouan

II.1.2.1. Appareil végétatif

Plante vivace, dressée, rameuse et ligneuse, se présente sous forme d'un arbrisseau en coussinet bombé de 30 à 60 cm de hauteur. Tiges ligneuses, à rameaux fortement épineux.

Feuilles : coriaces, glauques, lancéolées, linéaires, engainantes à la base, longues de 3-5 cm, souvent recourbées à leurs extrémités, à nervation parallèle, réseau de nervures peu apparent.



Figure 36 : *Bupleurum spinosum* Gouan dans son milieu écologique (Photo Dahmoune, 2020)



Figure 37 : Port général de *Bupleurum spinosum* Gouan (Photo Dahmoune, 2020).

II.1.2.2. Appareil reproducteur

Inflorescence : Ombelles peu florifères, terminales sur un pédoncule rigide et épais, avec des bractées au nombre de 3 à 6, courtes et linéaires. Ombellules petites, à involuclles de 2 à 5 bractéoles réduites, épaisses et aigues.

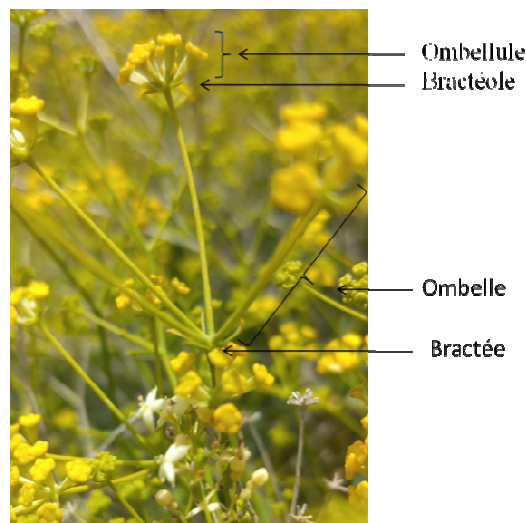


Figure 38 : Inflorescence de *Bupleurum spinosum* Gouan (Photo Dahmoune, 2020).

Fleurs : jaunes, subsessiles.

- **Périanthe** : 05 dents calicinales sont à peine marqués. Corolle dialypétale. 05 Pétales jaunes sont largement obovés, recourbés, pourvus d'une côte médiane saillante.
- **Androcée** : isostémone, 05 étamines, filets sous le disque nectarifère et constituant un stylopede, anthères sagittées médifixes à déhiscence introrse. La pollinisation est facilitée par les visites d'une foule d'insectes, principalement des Diptères et des Hyménoptères.

- **Gynécée** : ovaire, bicarpellé, infère, biloculé, chaque loge est uniovulé. Placentation axile. Les deux styles portés par le stylopode sont papilleux vers le sommet et sont recourbés vers l'extérieur. Le nectar est sécrété par un stylopode charnu, à marges arrondies saillantes et tout à fait lisses. La surface de ce stylopode est légèrement convexe. Les pétales recourbés n'atteignent pas les bords du stylopode; le nectar est donc librement exposé.

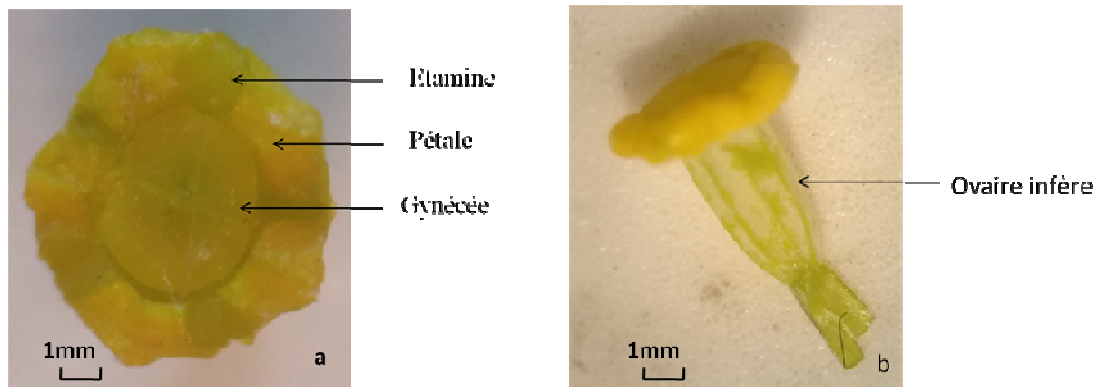


Figure 39 : Fleur de *Bupleurum spinosum* Gouan **a.** vue de face. **b.** vue de profil, observée en loupe binoculaire (Photo Dahmoune, 2020).

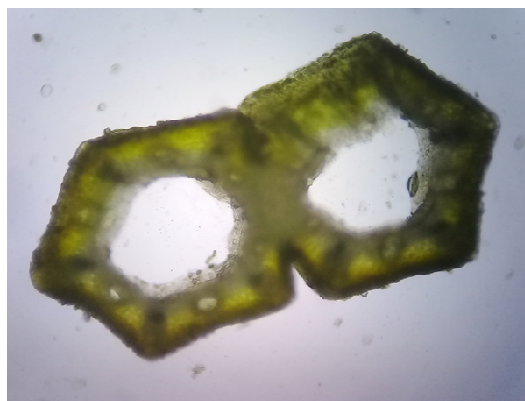


Figure 40 : Coupe transversale au niveau de l'ovaire de *Bupleurum spinosum* Gouan observée au microscope optique au G 10 X 10 (Photo Dahmoune, 2020).

Fruit : est un diakène. Les akènes sont pentagonaux. Chaque angle du pentagone porte une côte le plus souvent peu saillante et correspond à un faisceau libéro-ligneux.



Figure 41 : Diakène de *Bupleurum spinosum* Gouan (Photo Dahmoue, 2020).



Figure 42 : Diakène de *Bupleurum spinosum* Gouan vu à la loupe binoculaire (Photo Dahmoue, 2020).

Formule florale

$$FF : \oplus, 5S, 5P, 5E, \overline{2C^2_1}; \text{diakène}$$



Figure 43 : Diagramme floral de *B. spinosum* Gouan (Photo Dahmoue, 2020).

Conclusion florale : la fleur est cyclique, hétérochlamyde, dialyptéle, actinomorphe, pentamère, isostémone, épigyne, et bisexuée. Ces caractères floraux correspondent à la famille des Apiaceae, ordre des Apiales, Dicotylédones.

II.1.2.3. Analyse du grain de pollen

L'étude microscopique du pollen de *B. spinosum* a montré un grain de pollen allongé dont l'axe polaire mesure 25 μm et l'axe équatorial 15 μm . Il est tricolporé (trois sillons et trois pores), les sillons sont très longs, et les pores sont au milieu des sillons, de couleur orange, d'environ 20 μm , avec ornementation réticulée.



Figure 44 : Grain de pollen de *B. spinosum* observé au microscope optique au G 40 X 10 (Photo Dahmoune, 2020).

II.2. Etude histo-anatomique

II.2.1. *Asphodelus tenuifolius* Cav.

II.2.1.1. Anatomie de la racine

La structure de la coupe montre une section circulaire et une symétrie axiale. Nous observons de l'extérieur vers l'intérieur :

- L'écorce constituée d'un subéroïde, d'un vaste parenchyme cortical à méats, et d'un endoderme en U.
- Le cylindre central formé d'un péricycle, de tissus conducteurs et d'une moelle entièrement sclérifiée et réduite. Le nombre de faisceaux cribro-vasculaires est grand. Les faisceaux de xylème se sont différenciés d'une manière centripète (ce qui explique en partie l'absence de moelle) et se trouvent placés en alternance avec les faisceaux de phloème.

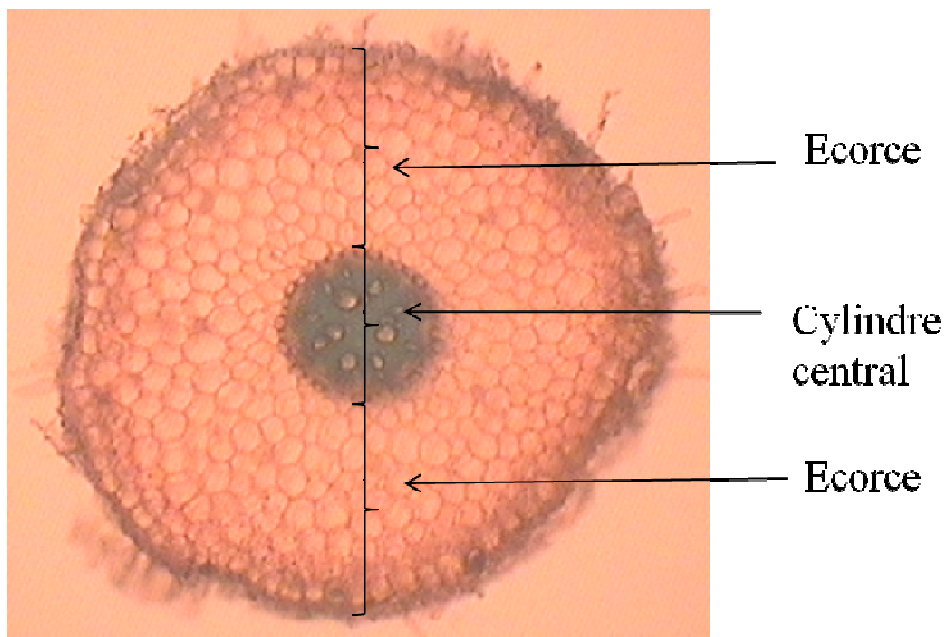


Figure 45 : Section transversale d'ensemble de la racine d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 4X10 (Photo Dahmoune, 2017).

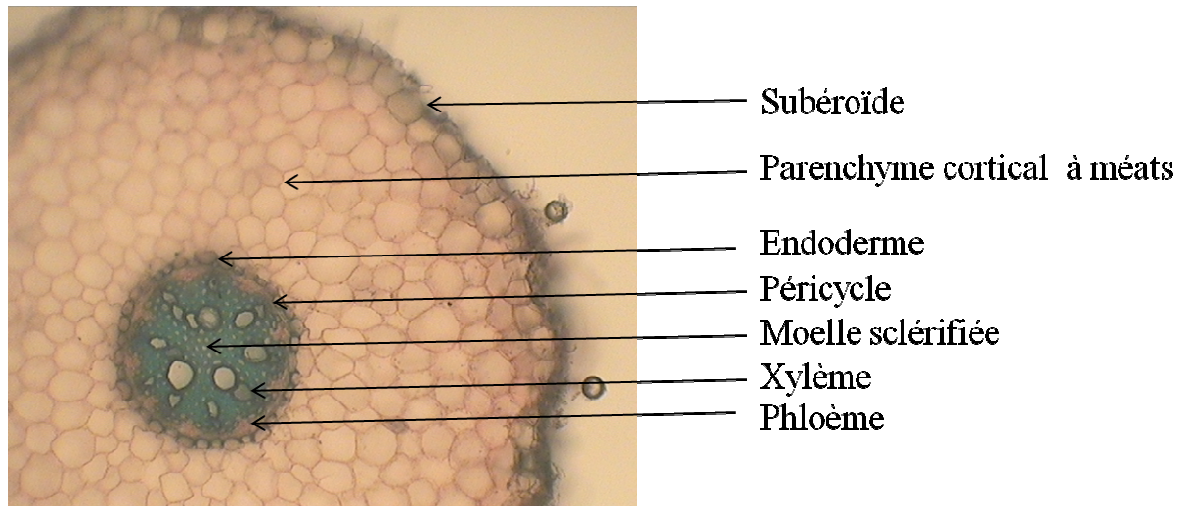


Figure 46 : Section transversale d'ensemble de la racine d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoune, 2017).

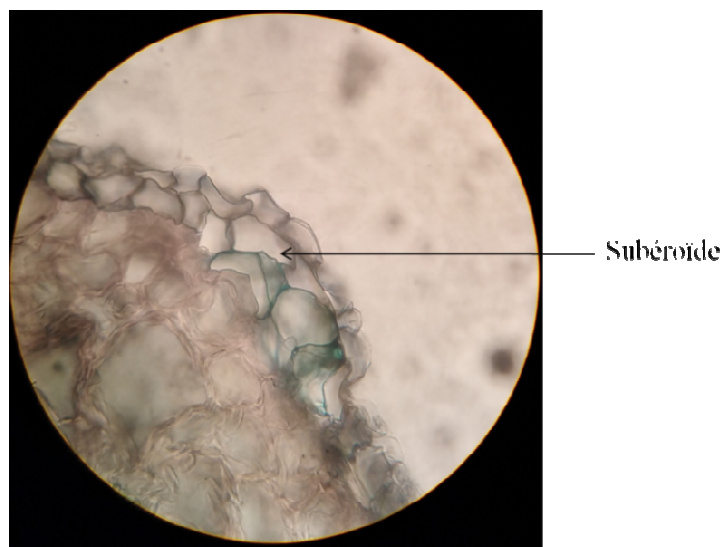


Figure 47 : Détail du subéroïde dans la section transversale de la racine d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

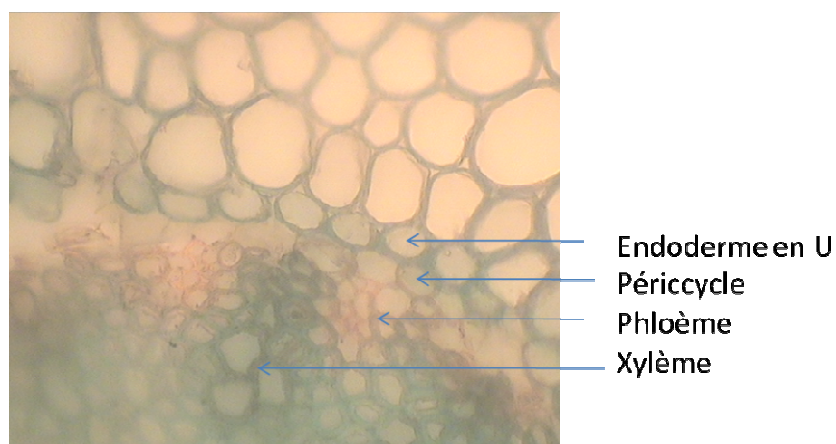


Figure 48 : Détail d'un faisceau cribro-vasculaire dans la section transversale de la racine d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

II.2.1.2. Anatomie de la tige

Nous retrouvons les caractères généraux d'une tige jeune de monocotylédone à section ronde et à symétrie axiale. De la périphérie vers le centre, nous notons la présence de :

- L'écorce constituée d'un épiderme cutinisé, d'un parenchyme palissadique de 3 à 4 assises de cellules et d'un parenchyme à méats.
- Le cylindre central est formé d'un anneau continu de sclérenchyme et de plusieurs cercles de faisceaux cribro-vasculaires dont les plus externes sont enserrés dans le sclérenchyme et les plus internes sont dans le parenchyme médullaire, le xylème et le phloème sont superposés l'un à l'autre dans chaque faisceau, le xylème est à différenciation centrifuge, remarquons aussi que la tige est creuse : la moelle a disparu.

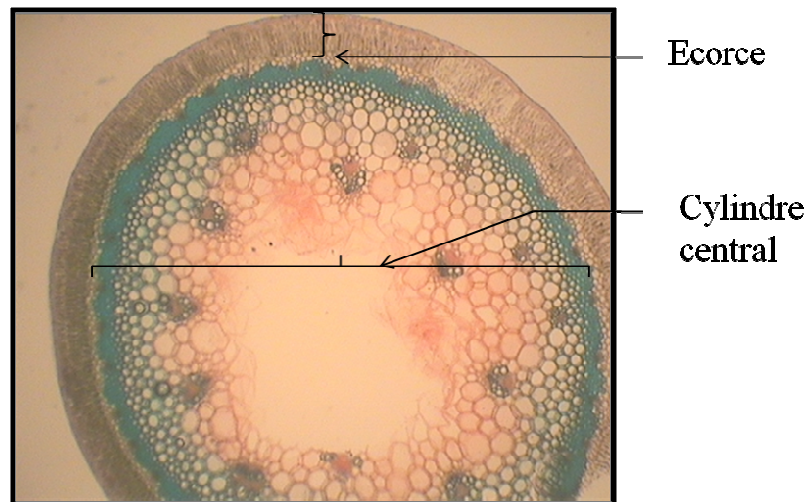


Figure 49 : Section transversale d'ensemble de la tige d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoune, 2017).

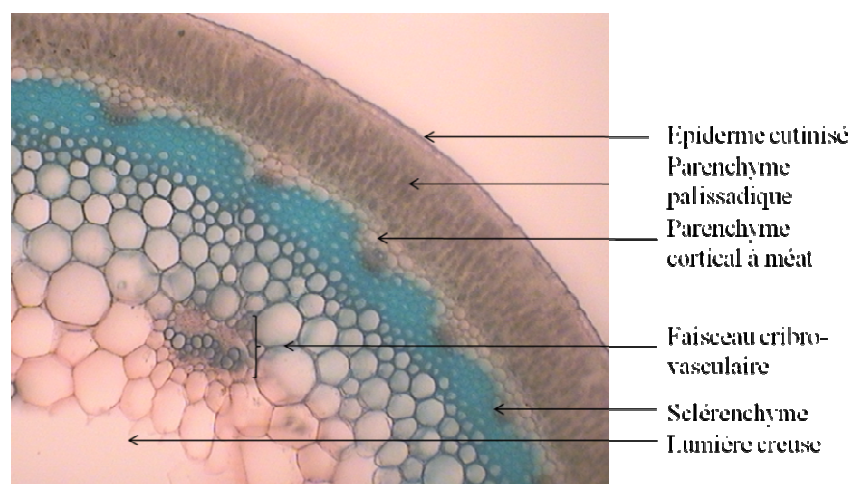


Figure 50 : Section transversale de la tige d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2017).

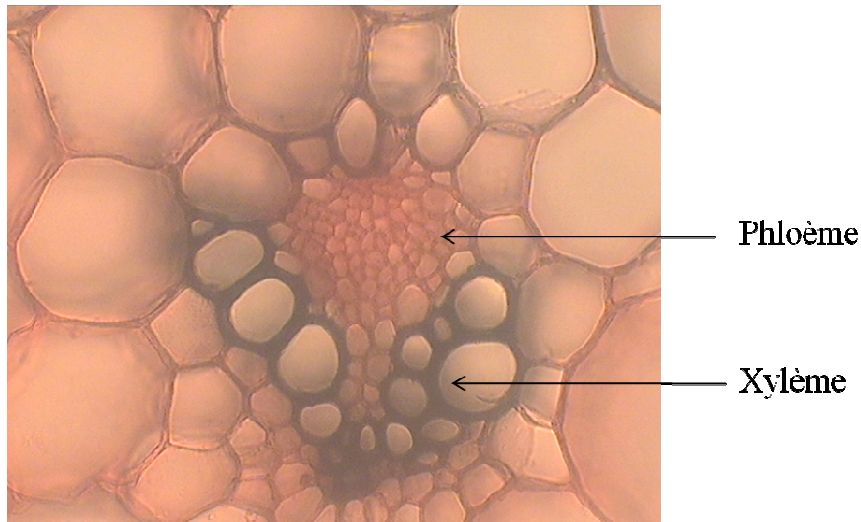


Figure 51 : Détail du faisceau cribro-vasculaire observé dans la section transversale de la tige d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

II.2.1.3. Anatomie de la feuille

La feuille d'*A. tenuifolius* Cav. est cylindrique (creuse ou fistuleuse), linéaire et présente une nervation parallèle.

La coupe (figure 52) qui a été faite dans une portion de cette feuille montre une symétrie bilatérale, de nombreux faisceaux cribro-vasculaires rappelant l'orientation parallèle des nervures, le xylème et le phloème apparaissent superposés comme dans les tiges.

De l'extérieure vers l'intérieur, nous observons :

- L'épiderme cutinisé possédant des stomates légèrement enfoncés. Certaines cellules émettent un prolongement cylindrique, assimilable à un poil, ce sont des cellules exodermiques.
- Le mésophylle ou le parenchyme foliaire : est unifacial, il comprend un parenchyme palissadique de 2 à 3 assises de cellules polygonales et un parenchyme à méats formé de plusieurs assises de cellules rondes et de très grande taille. Les cellules les plus internes sont déchirées.
- Les faisceaux cribro-vasculaires au sein du parenchyme à méats, disposés sur une rangée, correspondant aux nervures ayant à peu près la même taille. Chaque faisceau cribro-vasculaire présente le xylème vers la face supérieure et le phloème vers la face inférieure. Le centre de la coupe est creux.

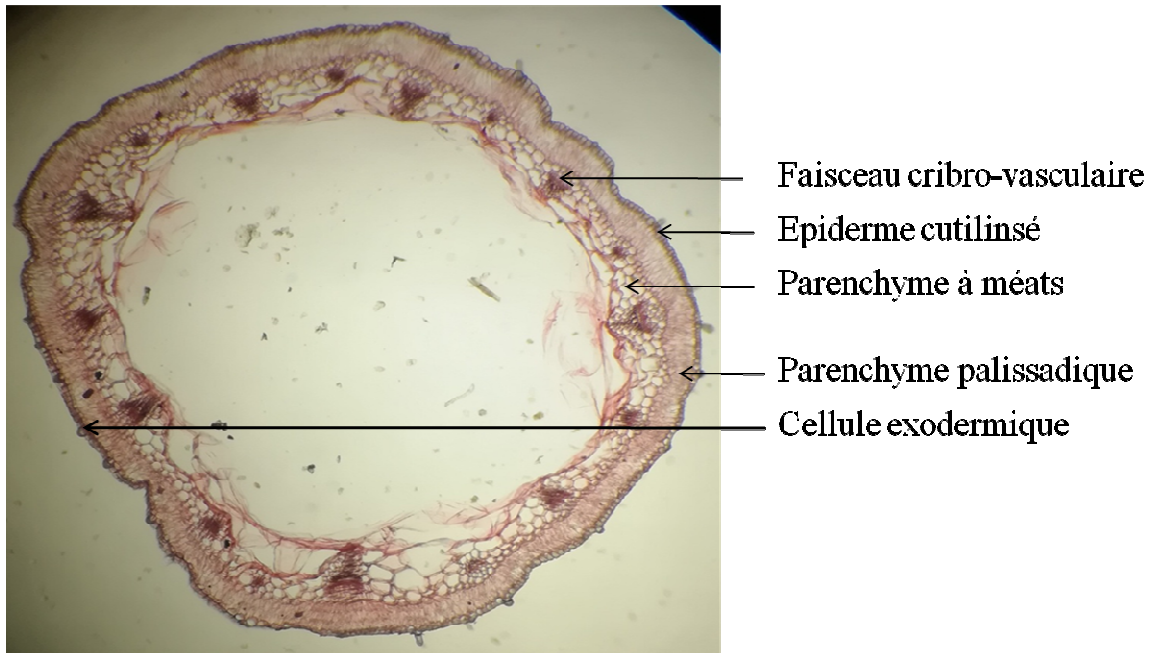


Figure 52 : Section transversale d'ensemble d'une feuille d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G10X10 (Photo Cherchali, 2019).

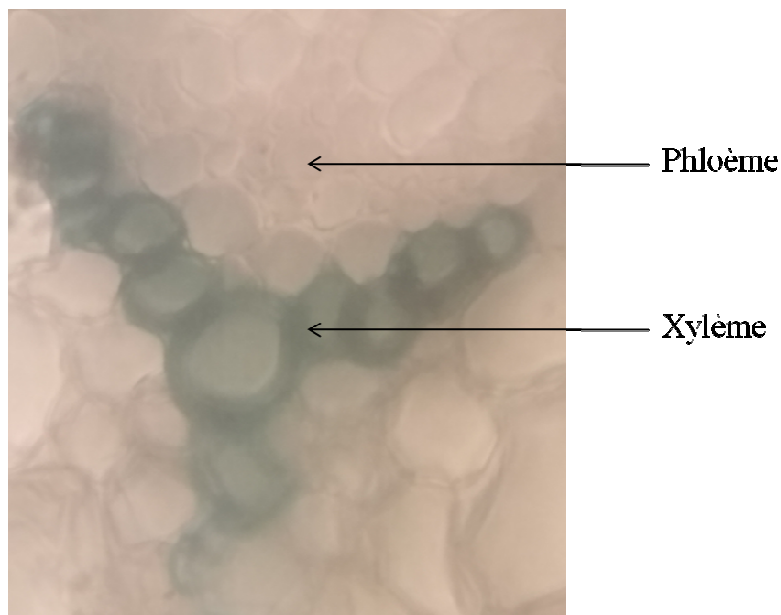


Figure 53 : Détail du faisceau cribro-vasculaire observé dans la section transversale de la feuille d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

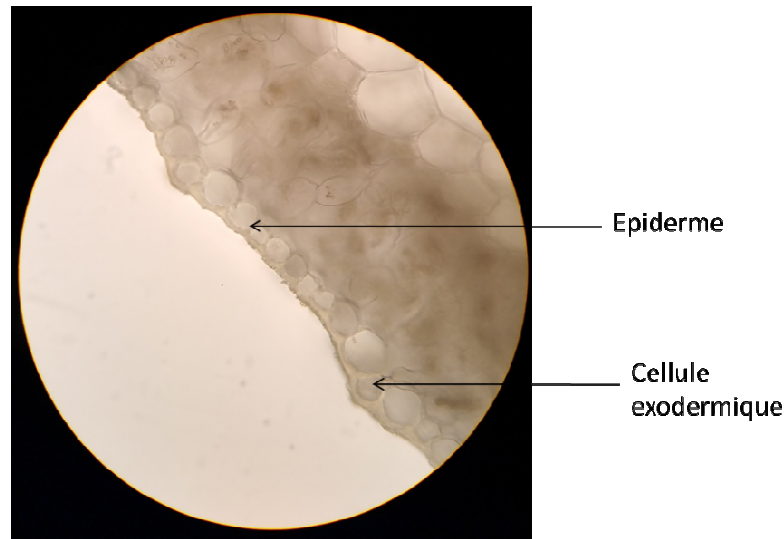


Figure 54 : Détail de l'épiderme observé dans la section transversale de la feuille d'*A. tenuifolius* Cav. au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

II.2.2. *Bupleurum spinosum* Gouan

II.2.2.1. Anatomie de la racine

Chez *B. spinosum* Gouan, l'absorption se fait par les nombreuses racines attachée au pivot. Cette propriété, est une conséquence de la vie pérennante. De l'extérieur vers l'intérieur, nous observons :

L'écorce constituée de :

- un suber formé d'un petit nombre d'assises de cellules et d'un phelloderme réduit.
- un parenchyme cortical, formé de cellules polygonales à taille variable.

Le cylindre central constitué de :

- tissus conducteurs d'origine secondaire organisés en pachyte continu, parcouru de rayons médullaires bi et tri sériés, et constitués d'un liber à cellules polygonales, d'un bois hétéroxylé envahissant entièrement la moelle avec un parenchyme ligneux cellulosique bien apparent.
- canaux sécréteurs au niveau du parenchyme cortical et du liber.

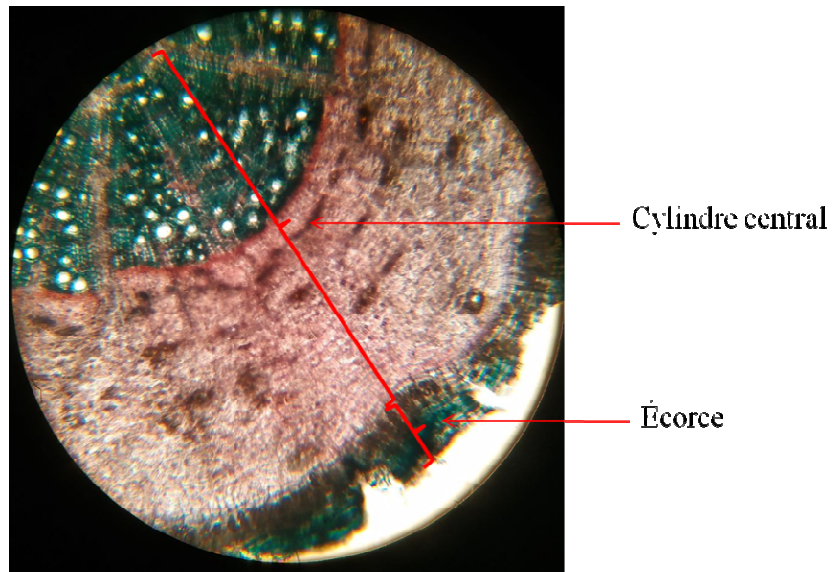


Figure 55 : Section transversale de la racine de *B. spinosum* Gouan, au microscope optique, G10X10 (Photo Dahmoune, 2020).

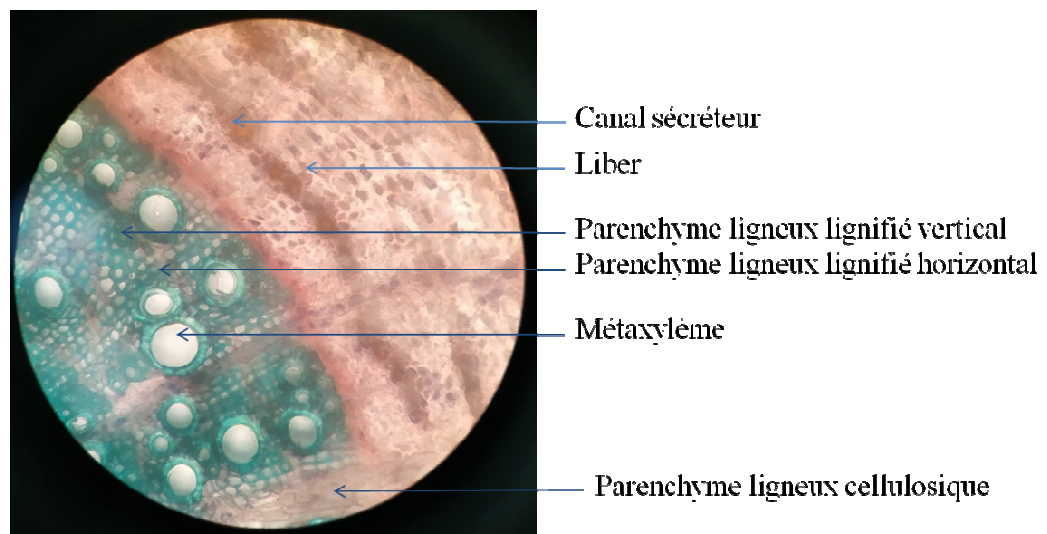


Figure 56 : Détail du cylindre central observé dans la section transversale de la racine de *B. spinosum* Gouan, au microscope optique, G10X40 (Photo Dahmoune, 2020).

II.2.2.2. Anatomie de la tige

La tige possède une section circulaire. La présence d'un collenchyme cortical dans quelques endroits de la tige sous forme de colonne, qui fait saillie vers l'extérieure, lui donne un aspect polygonal. De l'extérieur vers l'intérieur, nous observons :

L'écorce constituée de :

- Un épiderme dont les cellules sont parallépipèdes, allongées, dans le sens de l'axe. Les parois externes sont épaisses bombées vers l'extérieure. L'épiderme est pourvu de très rares stomates.
- Un collenchyme de type angulaire se disposant sous l'épiderme sous forme de colonnes assez robustes mais peu saillantes vers l'extérieure, ces colonnes constituent un appareil de soutien pour les tissus mous placés extérieurement au bois. Ces colonnes collenchymateuses sont réunies les unes avec les autres par des bandes collenchymateuses épaisses de 1 à 3 assises.
- Un parenchyme cortical constitué par des cellules arrondies assimilatrices plus ou moins polyédriques et denses. Le parenchyme cortical et le collenchyme cortical se partagent l'espace disponible à la périphérie de la tige.
- Canaux sécréteurs plus ou moins volumineux dans le parenchyme cortical.

Le cylindre central constitué de :

- Tissus conducteurs d'origine secondaires avec un liber qui ne présente pas de particularités notables. Dans le bois, les vaisseaux sont espacés, mais placés sur une même ligne radiale. Les faisceaux du bois sont reliés par des massifs interfasciculaires presque entièrement constitué par des fibres sclérifiées compactes. Ces fibres sclérifiées qui constituent la plus grande partie du bois ne présentent aucun caractère particulier.
- Une moelle constituée par de grosses cellules parenchymateuses et polyédriques, à membranes minces et lignifiées.

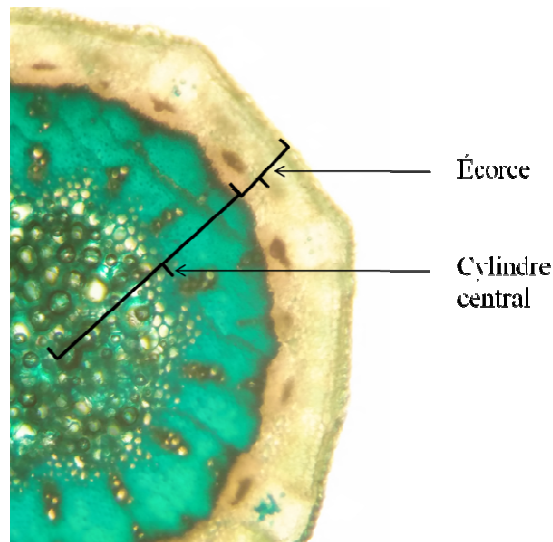


Figure 57 : Section transversale d'ensemble de la tige de *Bupleurum spinosum* Gouan au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoune, 2020).

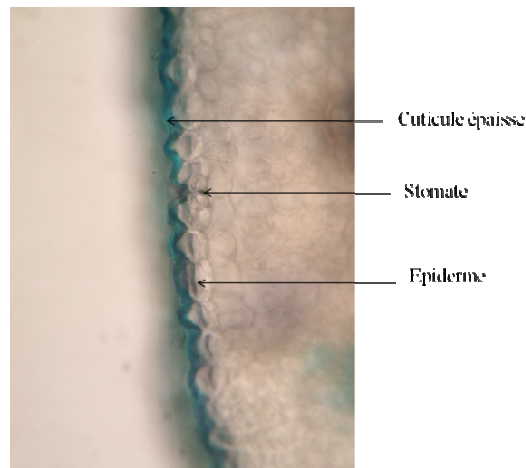


Figure 58 : Détail de l'épiderme dans la section transversale de la tige de de *Bupleurum spinosum* Gouan au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2020).

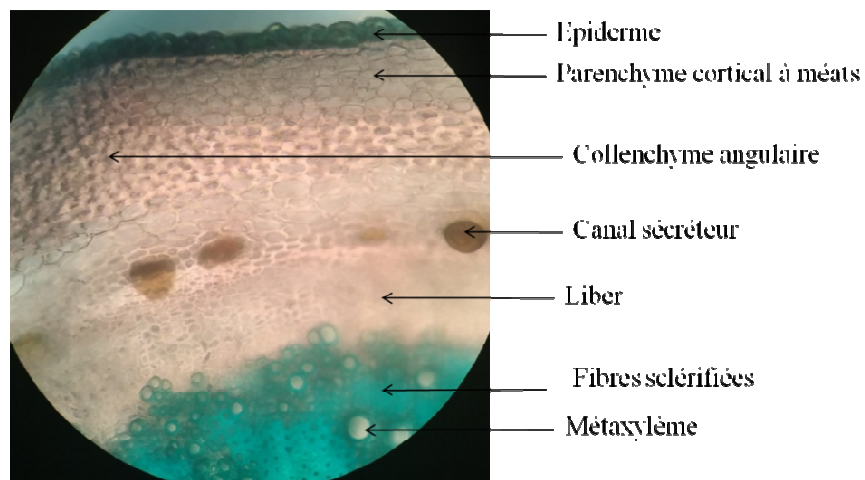


Figure 59 : Section transversale de la tige de *Bupleurum spinosum* Gouan au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2020).

II.2.2.3. Anatomie de la feuille

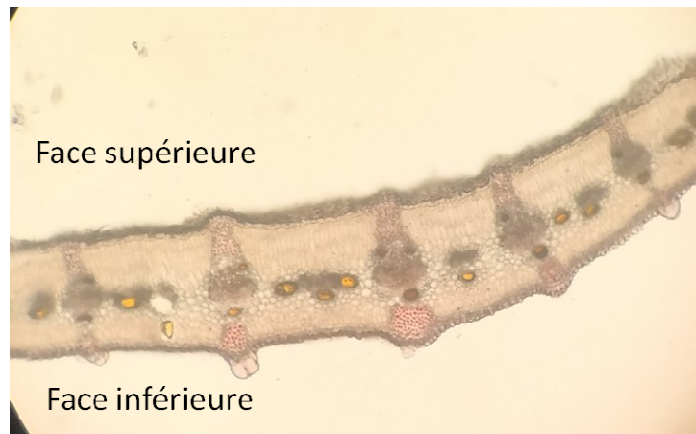


Figure 60 : Section transversale d'ensemble de la feuille de *Bupleurum spinosum* Gouan au microscope optique, G 10X10 (Photo Dahmoune, 2020).

De la face supérieure vers la face inférieure, on distingue :

- L'épiderme dont les cellules sont à parois externes bombées, épaisses et cuticularisées. Les parois radiales et internes sont minces. Stomates presque également distribués dans les deux faces de la feuille et situés à peu près dans le plan de l'épiderme.
- L'hypoderme constitué par une seule assise de petites cellules, parenchymateuses, dont les parois sont un peu collenchymateuses.
- Le chlorenchyme qui est subcentrique. On trouve le chlorenchyme palissadique sous les deux épidermes, cependant, celui de la face supérieure est plus marqué. Entre les deux chlorenchymes palissadiques, se trouve une zone de chlorenchyme à cellules arrondies, lâches, moins riches en chloroplastes.
- Les tissus conducteurs dans les nervures parallèles, les formations secondaires sont nulles ou réduites.
- Les canaux sécréteurs sont en face de chaque faisceau et dans le chlorenchyme central.
- Le collenchyme angulaire qui forme des coussinets dans les nervures saillantes des feuilles.

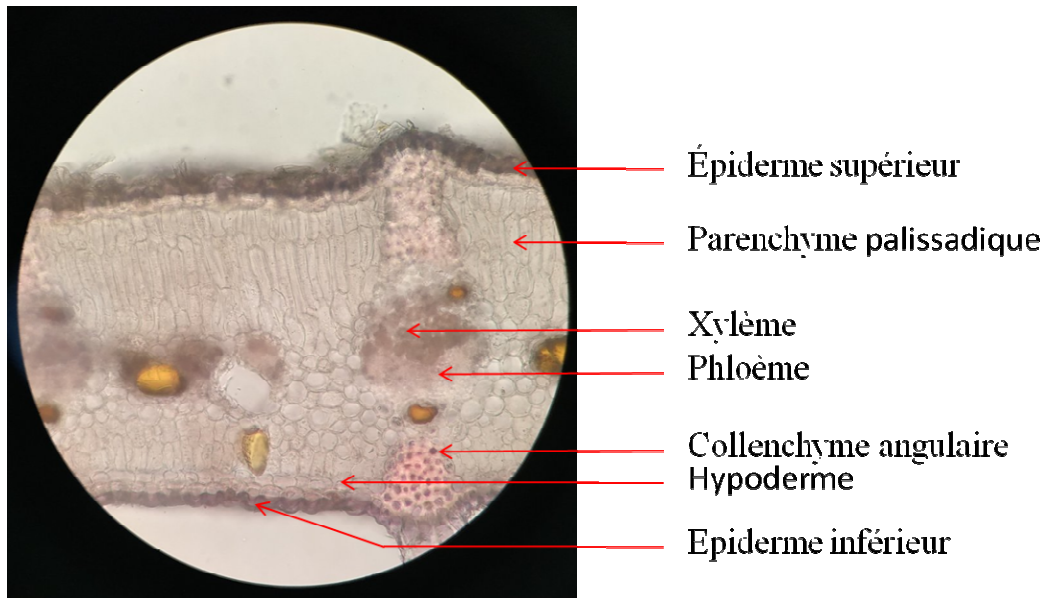


Figure 61 : Section transversale de la feuille de *Bupleurum spinosum* Gouan au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2020).

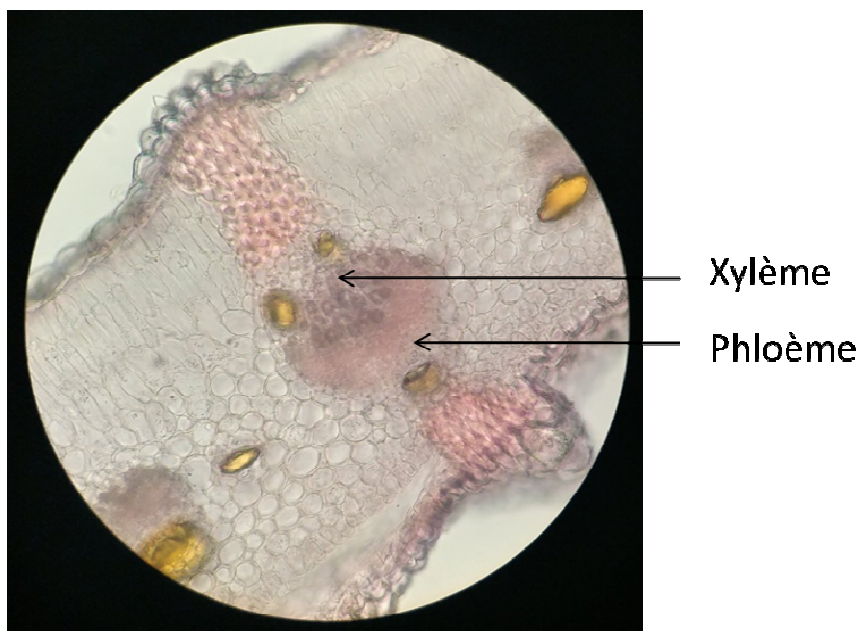


Figure 62 : Détail d'un tissu conducteur dans la section transversale de la feuille de *Bupleurum spinosum* Gouan au microscope optique, G 10X40 (Photo Dahmoune, 2020).

II.3. Etude des poudres

II.3.1. *Asphodelus tenuifolius* Cav.

II.3.1.1. Parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav.

II.3.1.1.1. Caractères organoleptiques

La poudre est rugueuse au toucher et présente une odeur légèrement aromatique rancie rappelant légèrement le henné. Saveur légèrement amère. Couleur vert clair bien conservée.

II.3.1.1.2. Caractères microscopiques

Les éléments caractéristiques de la poudre des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav. sont représentés dans les figures suivantes :

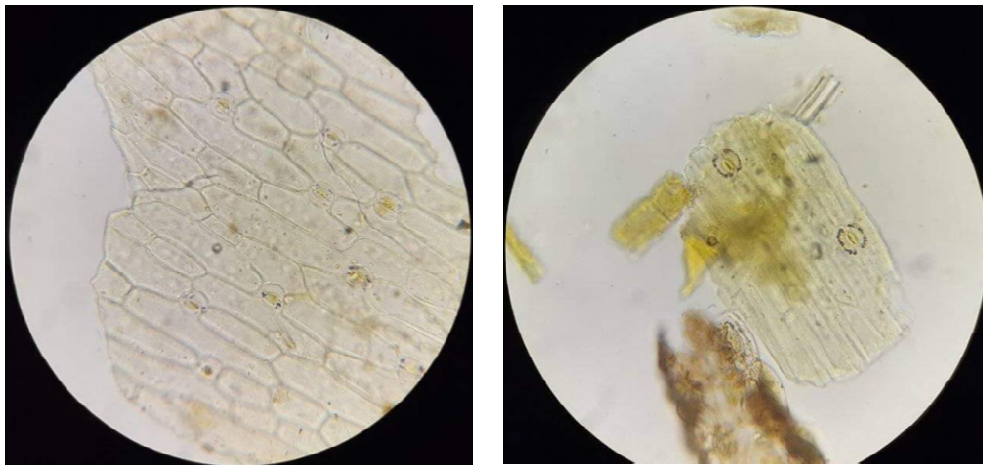


Figure 63 : Epiderme avec stomates dans la poudre des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav., vu de face, au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

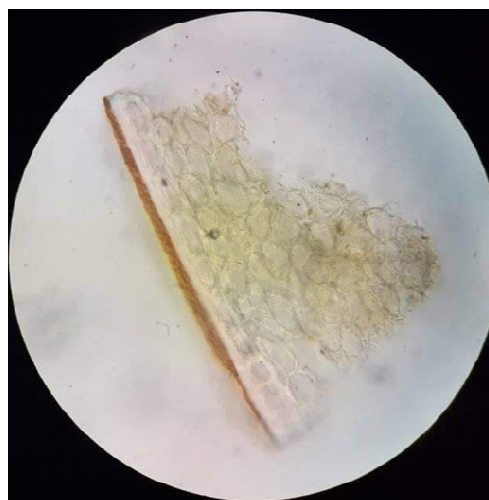


Figure 64 : Débris du parenchyme chlorophyllien et de l'épiderme dans la poudre des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

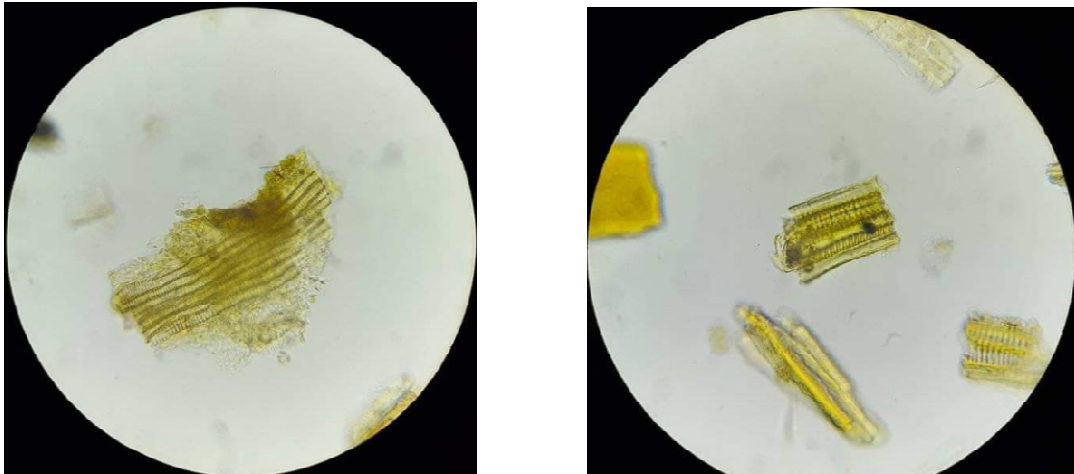


Figure 65 : Débris de vaisseaux spiralés dans la poudre des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 66 : Débris de vaisseaux réticulés dans la poudre des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 67 : Débris d'un parenchyme dans la poudre des parties aériennes d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

II.3.1.2. Racines d'*A. tenuifolius* Cav.

II.3.1.2.1. Caractères organoleptiques

La poudre est rugueuse au toucher et présente une odeur faible. Saveur faiblement amère, désagréable. Couleur marron clair bien conservée.

II.3.1.2.2. Caractères microscopiques

Les éléments caractéristiques de la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav. sont représentés dans les figures suivantes :



Figure 68 : Fragment du subéroïde dans la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav., vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

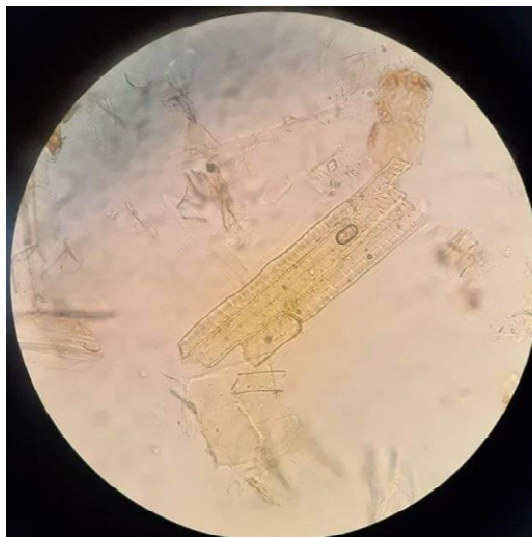


Figure 69 : Fragment du tissu vasculaire dans la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav., vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

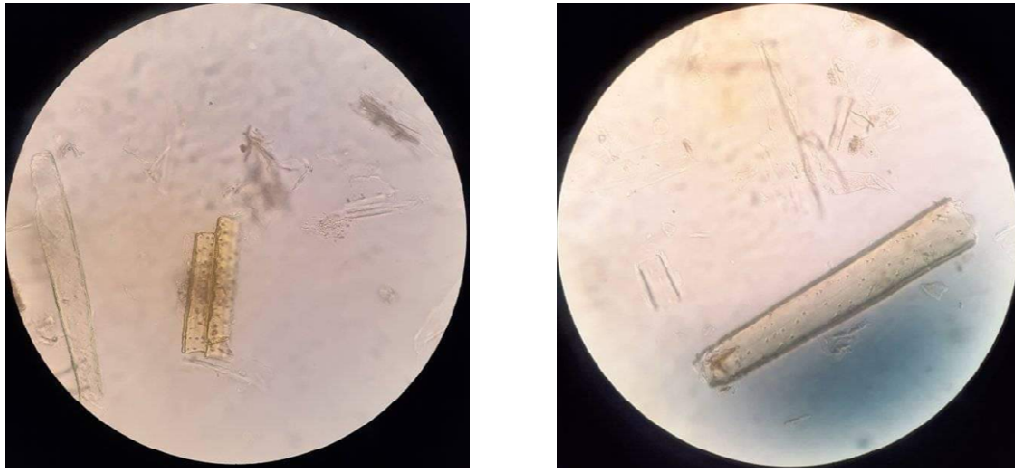


Figure 70 : Débris de vaisseaux ponctués dans la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017)



Figure 71 : Débris de vaisseaux rayés dans la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 72 : Débris de vaisseaux spiralés dans la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 73 : Débris du parenchyme dans la poudre des racines d'*A. tenuifolius* Cav., vus au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

II.3.2. *Bupleurum spinosum* Gouan

II.3.2.1. Parties aériennes de *B. spinosum* Gouan

II.3.2.1.1. Caractères organoleptiques : La poudre est rugueuse au toucher et présente une odeur faible légèrement rancie. Saveur faiblement amère. Couleur vert jaunâtre bien conservée.

II.3.2.1.2. Caractères microscopiques : les éléments caractéristiques de la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan sont représentés dans les figures suivantes :

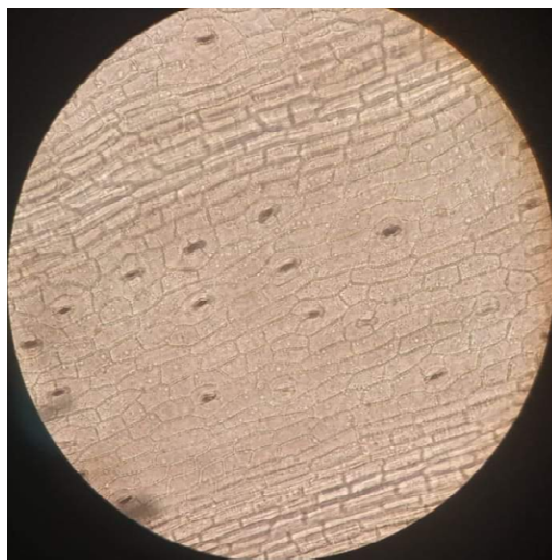


Figure 74 : Fragment de l'épiderme avec stomates dans la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

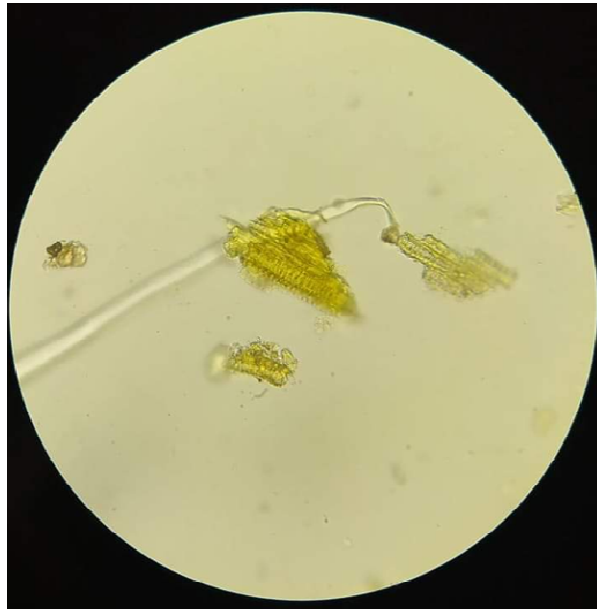


Figure 75 : Fragment du tissu vasculaire dans la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

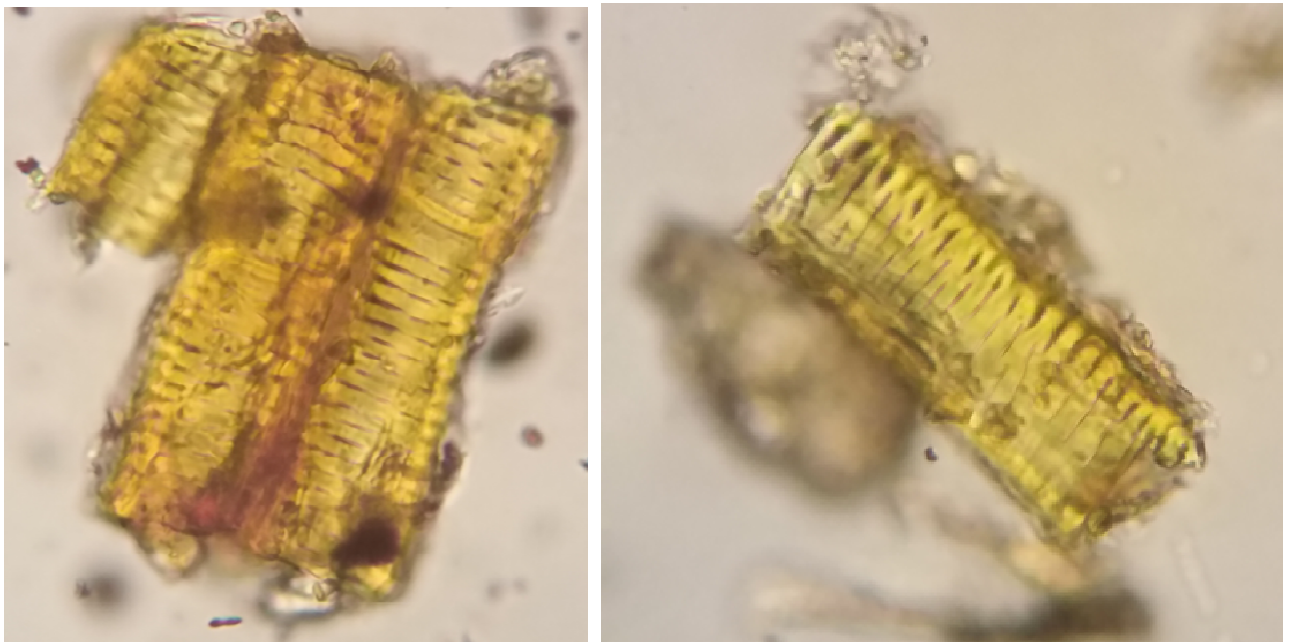


Figure 76 : Gros vaisseau réticulé dans la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40 X 10 (Photo Dahmoune, 2020).

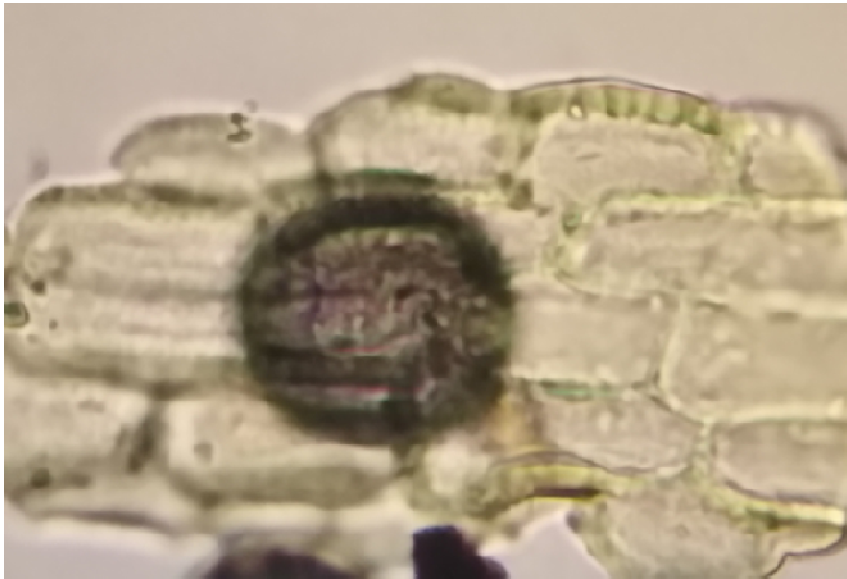


Figure 77 : Fragment du parenchyme dans la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40 X 10 (Photo Dahmoune, 2020)



Figure 78 : Fragment du tissu vasculaire montrant un gros vaisseau ponctué et le parenchyme ligneux dans la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40 X 10 (Photo Dahmoune, 2020).

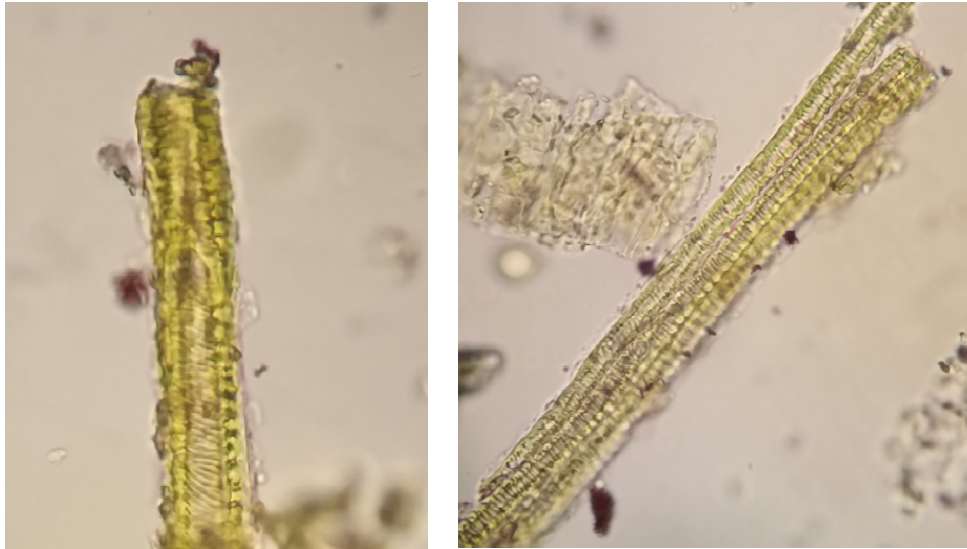


Figure 79 : Vaisseaux spiralés dans la poudre des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40 X 10 (Photo Dahmoune, 2020)

II.3.2.2. Racines de *B. spinosum* Gouan

II.3.2.2.1. Caractères organoleptiques : La poudre est rugueuse au toucher et présente une odeur faible. Saveur faiblement amère. Couleur marron jaunâtre bien conservée.

II.3.2.2.2. Caractères microscopiques : les éléments caractéristiques de la poudre des racines de *B. spinosum* Gouan, sont représentés dans les figures suivantes :



Figure 80 : Fragment du suber des racines de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 81 : Gros vaisseau ponctué dans la poudre des racines de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017)



Figure 82 : Vaisseau spiralé dans la poudre des racines de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).



Figure 83 : Fragment du parenchyme dans la poudre des racines de *B. spinosum* Gouan, vu au microscope optique, G 40X10 (Photo Dahmoune, 2017).

II.4. Test de germination des graines

II.4.1. *A. tenuifolius* Cav.

Conditions expérimentales

Tableau 12 : Conditions opératoires du test de germination des graines d'*A. tenuifolius* Cav.

Prétraitement	Milieu	Température et photopériode
Imbibition avec l'eau distillée pendant 24 h. Désinfection avec NaOCl dilué à 10 % pendant 5 minutes. Rinçage à l'eau distillée	Boite de pétri avec du papier filtre humidifiée à l'eau distillée	25 C° 12 h/lumière, 12h/obscurité

Taux de germination

Tableau 13 : Résultats du test de germination des graines d'*A. tenuifolius* Cav.

Taux de germination (%)	Temps total (jours)	1 ^{ère} germination (jours)	Dernière germination (jours)
27 %	28	2	28



Figure 84 : Graines germées d'*A. tenuifolius* Cav. (Cherchali, 2019).

II.4.2. *B. spinosum* Gouan

Conditions expérimentales

Tableau 14 : Conditions opératoires du test de germination des graines de *B. spinosum* Gouan.

Prétraitement	Milieu	Température et photopériode
Désinfection avec NaOCl dilué à 10 % pendant 5 minutes. Rinçage à l'eau distillée Stratification à 5°C pendant 24 h.	Boite de pétri avec du papier filtre humidifiée à l'eau distillée	25 C° 12 h/lumière, 12h/obscurité

Taux de germination

Tableau 15 : Résultats du test de germination des graines de *B. spinosum* Gouan.

Taux de germination (%)	Temps total (jours)	1 ^{ère} germination (jours)	Dernière germination (jours)
20	23	4	23



Figure 85 : Graines germées de *B. spinosum* Gouan. (Photo Chekired, 2021).

III. Analyse du sol

III.1. Sol prélevé à Oued Zergoun

Les principales caractéristiques physicochimiques du sol analysé sont données dans le tableau ci-dessous :

Tableau 16 : Résultats de l'analyse physicochimique du sol prélevé à Oued Zergoun.

CE	pH	CO%	MO%	N%	C/N	CaCO ₃ %
0,120	6,8	0,69	1,19	Absence	-	4,12
Non salé	Neutre	taux faible		Absence	Faible minéralisation	Non calcaire

La composition granulométrique du sol prélevé à Oued Zergoun est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Résultats de l'analyse granulométrique du sol prélevé à Oued Zergoun.

Argile %	Limon %		Sable %	
6,92	1,84		91,24	
	Limon fin %	Limon gros %	Sable fin %	Sable gros %
	0,18	1,66	88,26	2,98
Sol sableux				

III.2. Sol prélevé au col de Tirourda

Les caractéristiques physicochimiques du sol prélevé au col de Tirourda sont données dans le tableau ci-dessous :

Tableau 18 : Résultats de l'analyse physicochimique du sol prélevé au col de Tirourda.

CE	pH	CO%	MO%	N%	C/N	CaCO ₃ %
0,25	6,8	5,46	9,39	0,17	8	0
Non Salé	Neutre	Très riche en MO		Sol riche	Bonne minéralisation	non calcaire
					Satisfaisant	

L'analyse granulométrique du sol prélevé au col de Tirourda est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 19 : Résultats de l'analyse granulométrique du sol prélevé au col de tirourda.

Argile %	Limon %		Sable %	
36,75	31,43		31,81	
	Limon fin %	Limon gros %	Sable fin %	Sable gros %
	27,2	4,23	17,95	13,85
Sol limon-argileux				

IV.1. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique sont classés en fonction des différents critères d'observation, entre autres :

- Réaction très positive : +++++
- Réaction positive : +++
- Réaction moyennement positive : ++
- Réaction douteuse : +
- Réaction négative : 0

IV.1.1. *Asphodelus tenuifolius* Cav.

Les résultats du screening phytochimique sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 20 : Résultats du screening phytochimique des différents organes d'*A. tenuifolius*.
Cav.

Caractérisation	Parties aériennes	Racines
Alcaloïdes	+	+
Tanins		
Catéchiques	++++	++++
Galliques	0	0
Flavonoïdes	++++	++
Saponines	+	+
Indice de mousse	<100	<100
Dérivés anthracéniques	++++	++++
Hétérosides cardiotoniques	0	0
Stérols et triterpènes	++++	++++
Coumarines	0	0

IV.1.2. *Bupleurum spinosum* Gouan

Les résultats du screening phytochimique sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 21 : Résultats du screening phytochimique des différents organes de *B. spinosum*. Gouan.

Caractérisation	Parties aériennes	Racines
Alcaloïdes	0	0
Tanins		
Catéchiqes	++	++
Galliques	0	0
Flavonoïdes	++++	++
Saponines	+++	++++
Indice de mousse	143	200
Dérivés anthracéniques	0	0
Hétérosides cardiotoniques	0	0
Stérols et triterpènes	++++	++++
Coumarines	0	0

IV.2. Dosage des principales classes chimiques

Les extraits préparés ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible, pour leurs contenus en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins. Les courbes d'étalonnage prouvent que la relation entre la concentration et l'absorbance est proportionnelle, donc la loi de Beer Lambert est vérifiée dans la gamme de concentrations utilisées. L'estimation des teneurs en polyphénols totaux a été effectuée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La vanilline a été utilisée pour quantifier les tanins condensés dans les extraits étudiés.

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols totaux sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (µg EAG/mg MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique suivante :

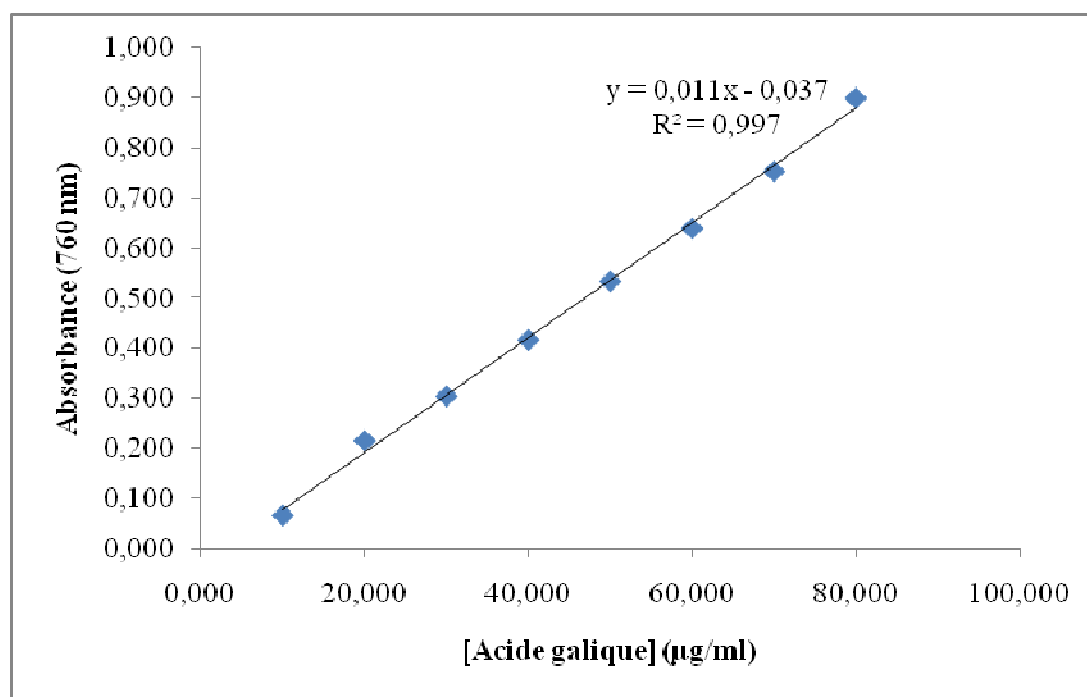


Figure 86 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'étalon acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EC/mg de MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la quercétine suivante :

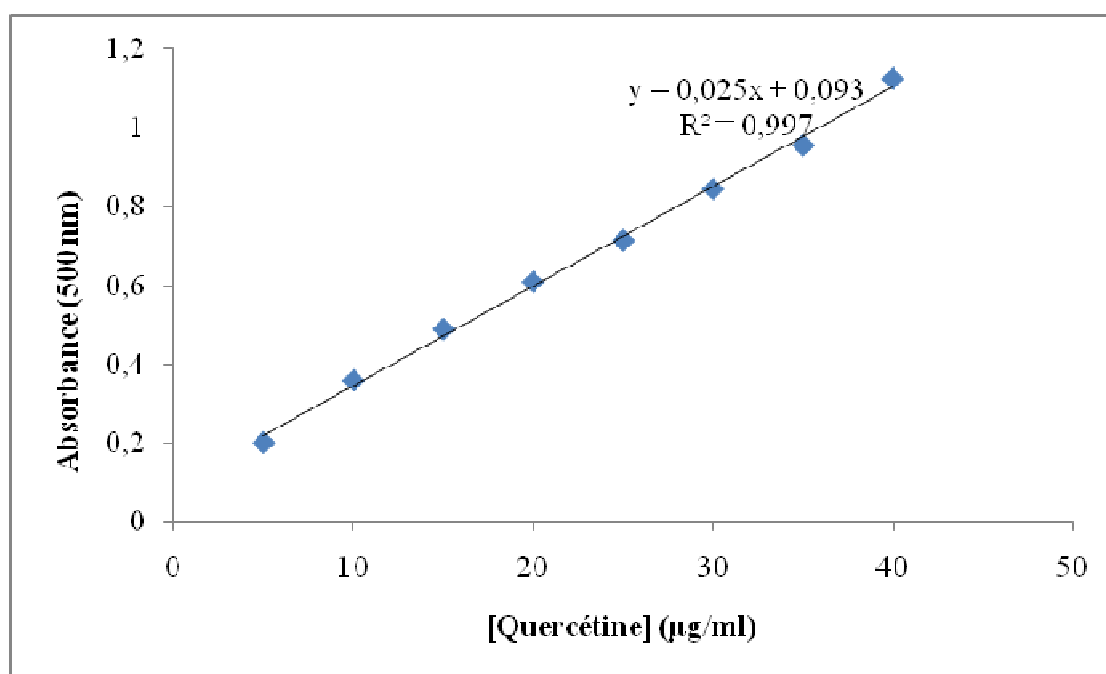


Figure 87 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'étalon quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats obtenus pour le dosage des tanins sont exprimés en µg équivalent de catéchine par mg de la matière sèche (µg EC/mg de MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la catéchine suivante :

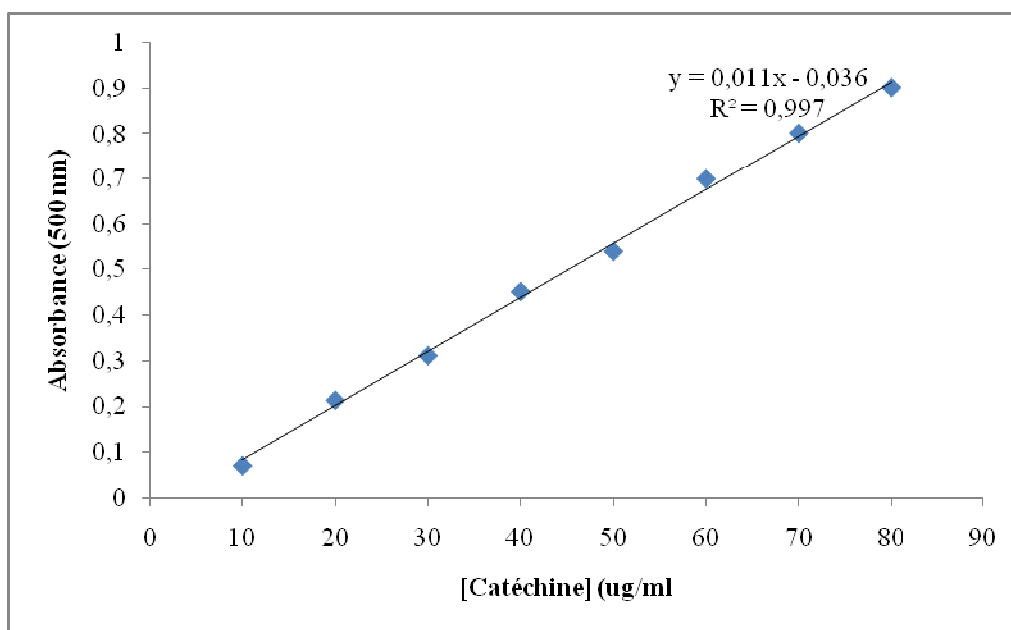


Figure 88 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'étalon catéchine pour le dosage des tanins.

IV.2.1. *Asphodelus tenuifolius* Cav.

Les résultats des teneurs en composés phénoliques dans les extraits d'*A. tenuifolius* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 22 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits d' *A. tenuifolius* Cav.

Classe phytochimique	Polyphénols totaux (µg EAG/mg de MS)	Flavonoïdes totaux (µg EQ/mg de MS)	Tanins (µg EC/mg de MS)
Parties aériennes de <i>A. tenuifolius</i>	126.75 ± 0.87	584.94 ± 5.92	139.16 ± 2.56
Racines d' <i>A. tenuifolius</i>	157.45 ± 0.91	75.34 ± 0.99	88.90 ± 1.69

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures ± SD (Standard deviation)
Test Anova, P<0.05

IV.2.2. *Bupleurum spinosum* Gouan

Les résultats des taux en composés phénoliques pour les extraits de *B. spinosum* sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 23 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits de *B. spinosum* Gouan.

Classe phytochimique	Polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg de MS}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg de MS}$)	Tanins ($\mu\text{g EC/mg de MS}$)
Parties aériennes de <i>B. spinosum</i>	145.61 \pm 0.66	9.35 \pm 0.14	55.26 \pm 0.29
Racines de de <i>B. spinosum</i>	128.50 \pm 0.43	5.79 \pm 0.09	58.53 \pm 0.25

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures \pm SD (Standard déviation)
Test Anova, $P < 0.05$

V. Extraction, Isolement, purification et détermination structurale de métabolites secondaires

V.1. Composés isolés d'*Asphodelus tenuifolius* Cav.

V.1.1. Description du composé AT2

Le composé AT2 se présente sous forme d'une poudre jaune. Il réagit positivement au réactif de Neu et affiche une fluorescence jaune sous UV à 254 nm.

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse obtenu en ESI-MS en mode positif du composé AT2 donne un ion pseudo-moléculaire à m/z 595 $[2M+Na]^+$, suggérant une masse moléculaire de 286 uma, compatible avec une formule brute de $C_{15}O_6H_{10}$.

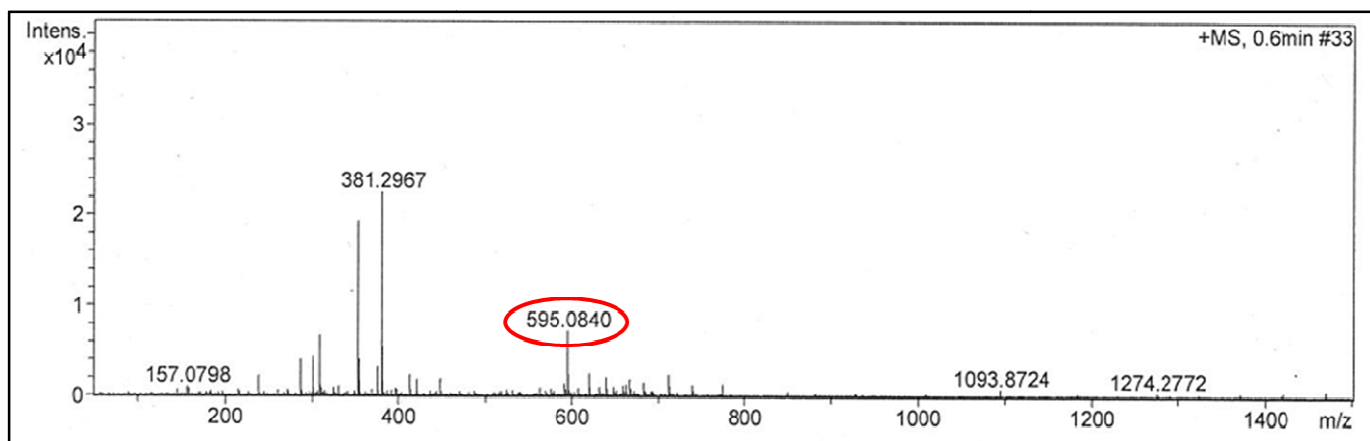


Figure 89 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé AT2.

Spectrométrie RMN

Spectre RMN¹H

L'analyse du spectre RMN¹H montre des signaux attribuables à un flavonoïde :

- un signal sous forme d'un doublet à δ_H 6.17 avec une constante de couplage de $J = 1.8$ Hz, correspondant à H-8.
- un signal sous forme de singulet à δ_H 6.40, attribuable à H-6.
- un autre signal sous forme de singulet à δ_H 6.51, attribuable à H-3.
- un autre signal sous forme de doublet à δ_H 6.88 avec une constante de couplage de $J = 9.0$ Hz, attribuable à H-6'.

- deux autres signaux sous forme de singlets à δ_H 7.35 et 7.36, attribuables à H-2' et H-5'.

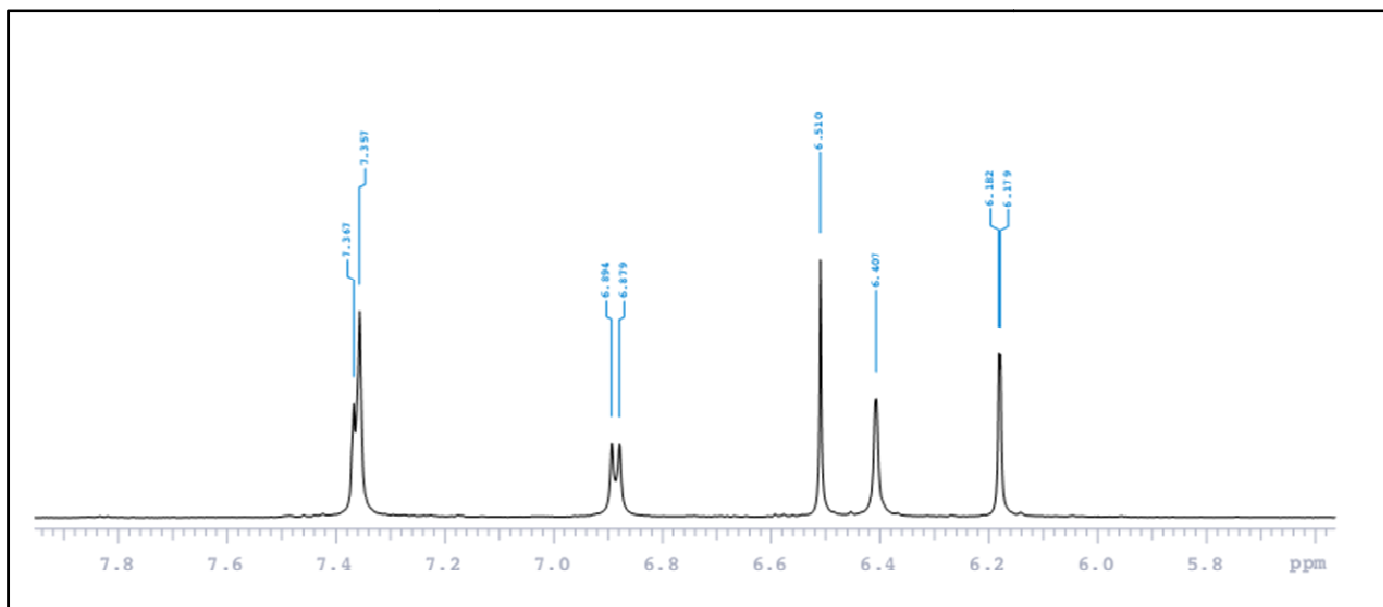


Figure 90 : Spectre RMN¹H du composé AT2.

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C du composé AT2 indique :

- la présence de 15 atomes de carbones dont 9 carbones quaternaire à δ_C 164.8 (C-2), 182.3 (C-4), 161.7 (C-5), 165.3 (C-7), 158.0 (C-9), 103.6 (C-10), 122.2 (C-1'), 145.6 (C-3'), 149.6 (C-4'). Les carbones C-5, C-7, C-3' et C-4' portent des hydroxyles, ce qui explique leurs déblindage important.
- 6 groupement CH- à 102.3 (C-3), 93.7 (C-6), 98.9 (C-8), 112.6 (C-2'), 118.8 (C-5') et 115.3 (H-6').

Spectre HSQC

Cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons directement liés entre eux par les corrélations $^1J_{H-C}$. Les valeurs des déplacements chimiques sont reportées dans le tableau 24.

Tableau 24 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **AT2** dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_H	δ_C
2	164,8	-
3	102,3	6,51
4	182,3	-
5	161,7	-
6	93,7	6,40
7	165,3	-
8	98,9	6,17 d (1.8)
9	158	-
10	103.6	-
1'	122,2	-
2'	112,6	7.35
3'	145,6	-
4'	149,6	-
5'	118,6	7,36
6'	115,3	6,88 d (9.0)

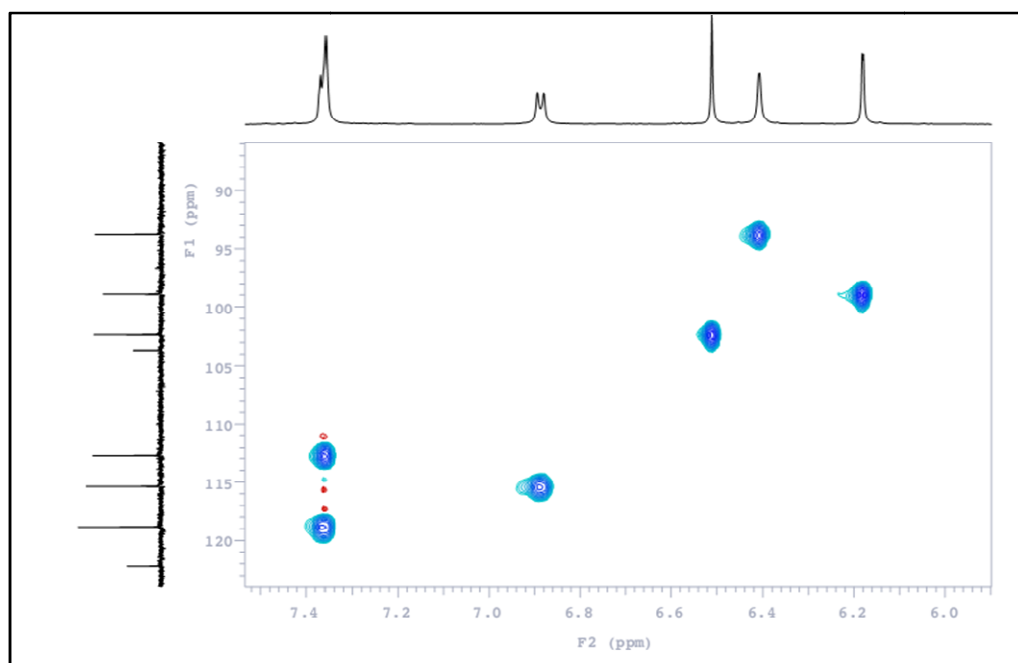


Figure 91 : Spectre HSQC du composé AT2.

Conclusion

Les spectres enregistrés en RMN 1D et RMN 2D (HSQC, HMBC, COSY, TOCSY et ROESY) mènent à l'identification du composé AT2 comme étant la lutéoline (Faidi et al., 2014).

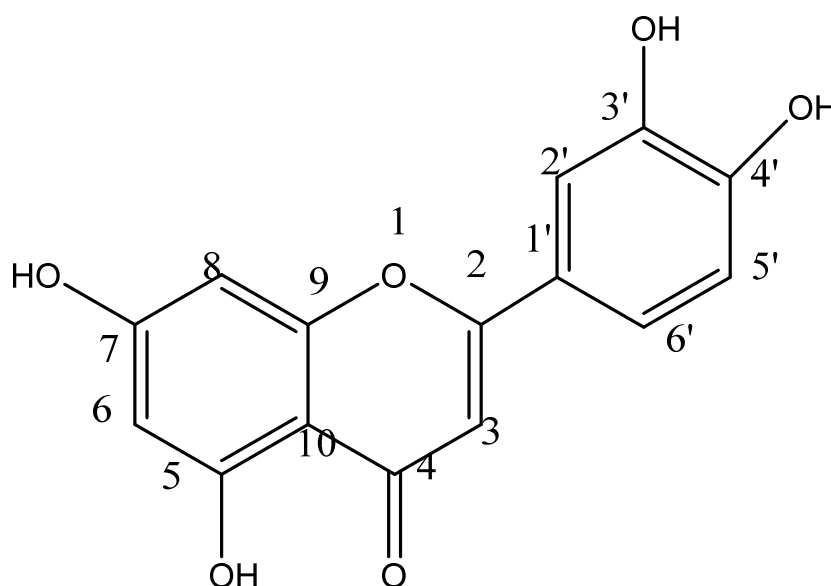


Figure 92 : Structure du composé naturel AT2.

V.1.2. Description du composé AT3

Le composé AT3 se présente sous forme d'une poudre jaune.

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse obtenu en ESI-MS en mode positif du composé AT3, montre un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 353 $[M+Na]^+$, suggérant une masse moléculaire de 330 uma, correspondant à la formule brute de $C_{18}H_{34}O_5$.

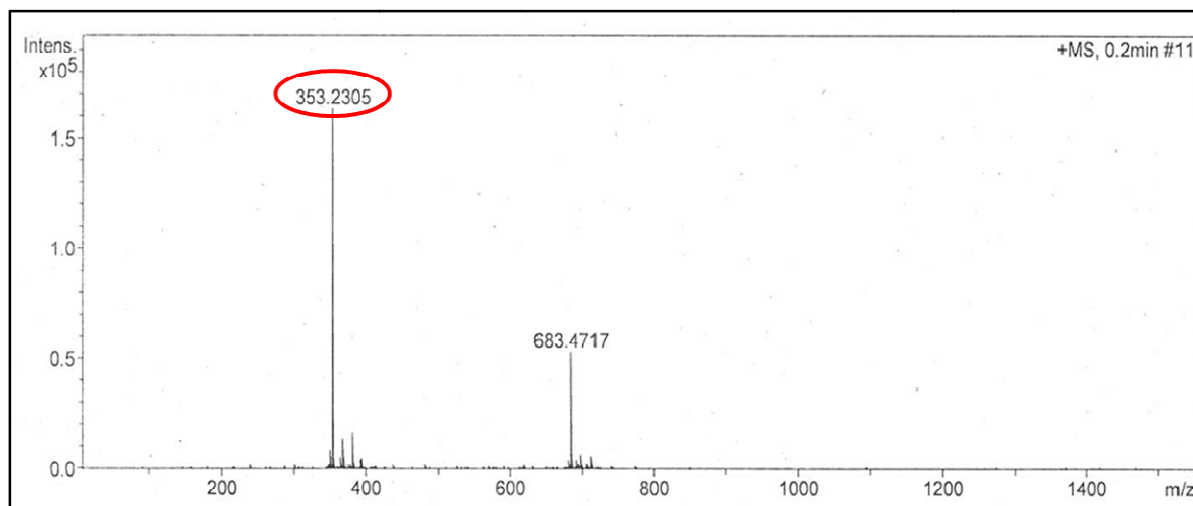


Figure 93 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé AT3.

Spectrométrie RMN

Spectre RMN¹H

Le spectre RMN¹H montre les caractéristiques d'une oxylipine :

- le signal sous forme d'un triplet des protons du groupement méthyle CH₃-18 à δ_H 0.90, avec une constante de couplage de $J = 7.2$ Hz.
- un pic intense autour de δ_H 1.37 du aux groupements méthylènes.
- un autre signal apparait sous forme d'un triplet à δ_H 2.24, avec une constante de couplage de $J = 7.8$ Hz, correspond au méthylène en position α de la fonction carbonyle.
- un signal à δ_H 1.59 correspondant au méthylène en position β de la fonction carbonyle.
- deux signaux à δ_H 5.69 (dd, $J = 16.2, 6.0$ Hz, H-7), et 5.72 (dd, $J = 16.2, 6.0$ Hz, H-8), correspondant aux H-7 et H-8 de la double liaison.

- trois signaux apparaissant à δ_H 4.05 (q, $J = 6.0$ Hz, H-6), 3.90 (t, $J = 6.0$ Hz, H-9), 3.41 (m, H-10), correspondant à des protons portés par des carbones hydroxylés.

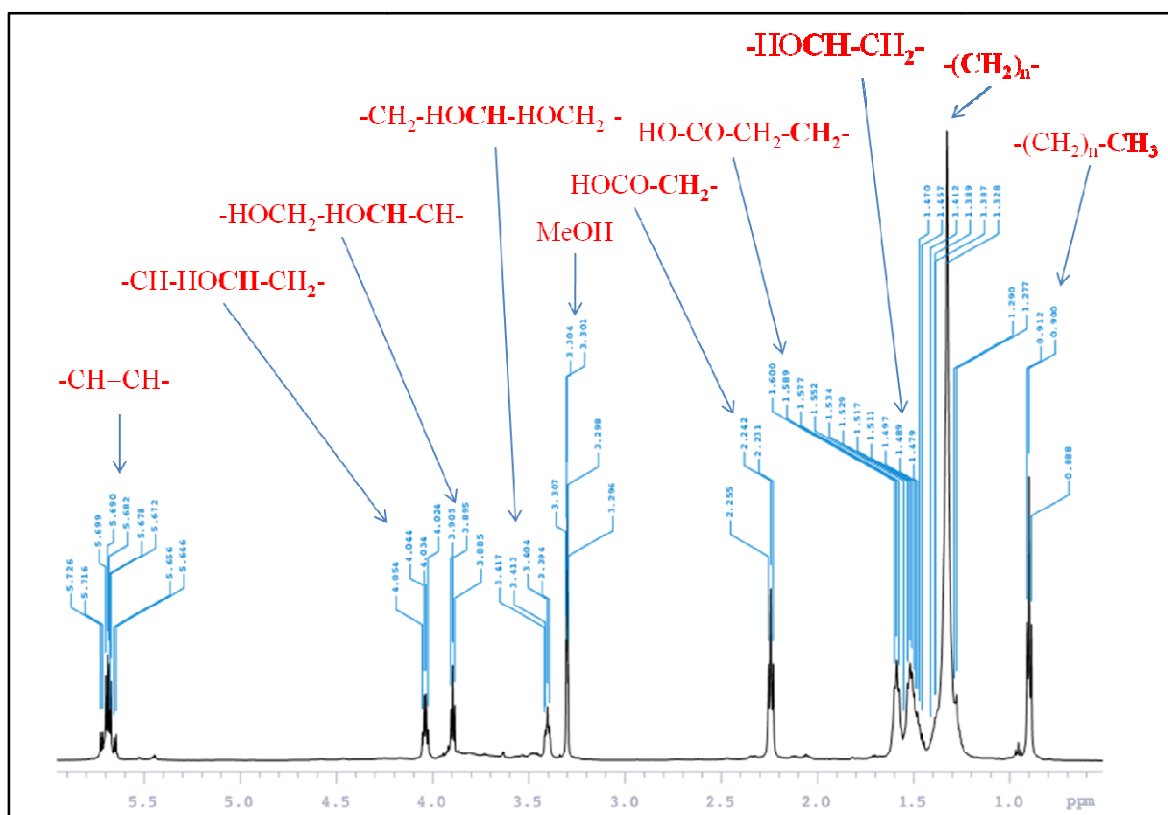


Figure 94 : Spectre RMN¹H du composé AT3.

Spectre RMN¹³C

Sur le spectre RMN¹³C, on observe ce qui suit :

- un signal à δ_C 12.9 correspondant au groupement méthyle terminal.
- les carbones en position α et β du carbonyle résonnent à δ_C 34.3 et 25.1 respectivement.
- les carbones en position α et β du méthyle résonnent à δ_C 22.2 et 32.1 respectivement.
- les carbones de la chaîne méthylène résonnent à δ_C 29.0.
- trois carbones C-6, C-9 et C-10 déblindés à δ_C 71.6, 75.1 et 74.3, respectivement, du fait de la présence d'hydroxyles.
- un carbone quaternaire qui résonne à δ_C 177.4 correspondant à la fonction carbonyle.

Spectre HSQC

Le spectre HSQC permet d'attribuer les valeurs de chaque carbone ainsi que ses protons grâce aux corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$ observées. Les valeurs des déplacements chimiques des carbones et des hydrogènes sont portées sur le tableau 25.

Tableau 25 : Déplacements chimiques en RMN 1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé **AT3** dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_H	δ_C
1	-	177.4
2	2.24 t (7.8)	34.3
3	1.59 m	25.1
4	1.37 m	29.0
5	1.50 m	36.9
6	4.05 q (6.0)	71.6
7	5.72 dd (16.2, 6.0)	135.1
8	5.69 dd (16.2, 6.0)	129.6
9	3.90 t (6.0)	75.1
10	3.41 m	74.3
11	1.30 m	31.6
12	1.30 m	24.9
13	1.37 m	29.0
14	1.37 m	29.0
15	1.37 m	29.0
16	1.34 m	32.1
17	1.36 m	22.2
18	0.90 t (7.2)	12.9

Spectre COSY

Cette expérience permet de corréliser les protons qui sont couplés scalairement, en d'autres termes celle-ci permet de visualiser les constantes de couplage 3J entre deux protons.

Le pic de croisement entre δ_H 3.41 (H-10) et δ_H 3.90 (H-9) prouve que les deux protons H-10 et H-9 sont voisins.

Spectre ROESY

La configuration de la molécule a été établie par analyse des pics de croisements du spectre ROESY. La présence d'un pic entre δ_H 1.50 (H-8) et δ_H 1.30 (H-11), suggère une configuration 9R, 10R du composé **AT3**.

Les spectres enregistrés en RMN 1D et RMN 2D (HSQC, HMBC, COSY, TOCSY et ROESY) ne nous permettent pas de connaître la longueur de la chaîne de l'oxylipine, ni la position de la double liaison. La masse obtenue de 330 uma nous permet de calculer le nombre de carbones de la molécule et de conclure la longueur de la chaîne de l'acide gras. Une comparaison des valeurs des déplacements chimiques de la molécule avec celle de la littérature nous a permis de positionner la double liaison et de conclure sa configuration.

Conclusion

Au vu de tout ce qui précède, le composé AT3 a été identifié comme étant une oxylipine, l'acide (9R, 10R, 7E)-6,9,10-trihydroxyoctadec-7-énoïque, mis en évidence pour la première fois dans *Dracontium lorentense* Engl. (Araceae) (Benavides et al., 2009).

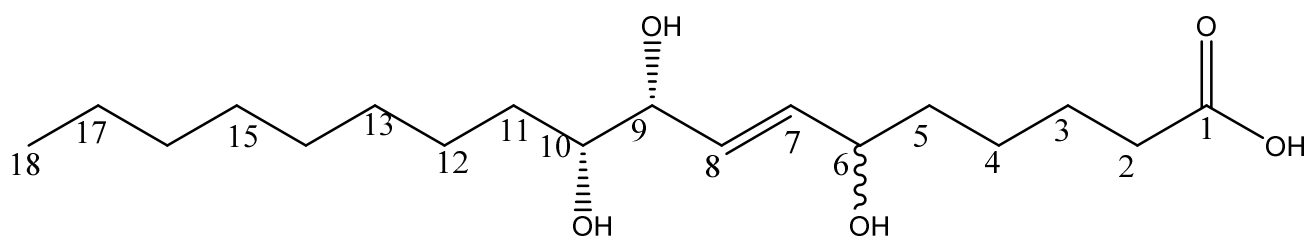


Figure 95 : Structure du composé naturel **AT3**.

V.1.3. Description du composé AT6

Le composé AT6 se présente sous forme d'une poudre jaune.

Spectrométrie de masse

Sur le spectre de masse du composé **AT6**, réalisé en ESI-MS en mode positif, un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 683 $[M+Na]^+$, suggérant une masse atomique de 660 uma, en accord avec la formule brute de $C_{36}H_{69}O_8P$.

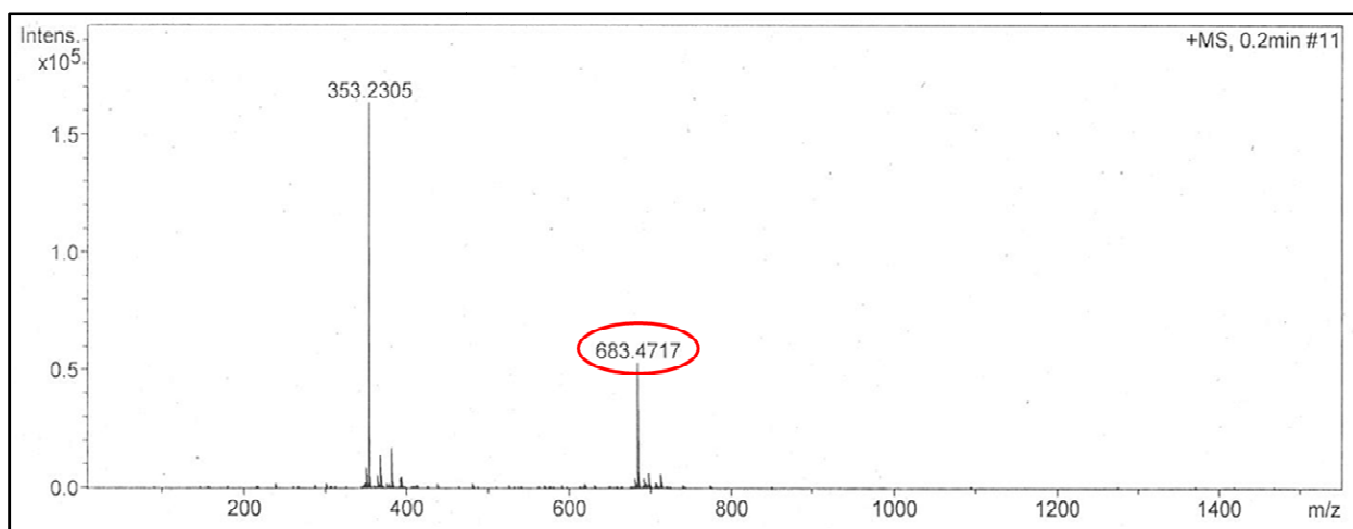


Figure 96 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **AT6**.

Spectrométrie RMN

Spectre RMN¹H

Le spectre RMN¹H du composé **AT6** montre un spectre typique d'un acide phosphatidique, avec deux chaînes d'acides gras :

- un multiplet correspondant aux protons de deux groupements méthyles CH_3 -, à δ_H 0.90. Ces deux groupements méthyles appartiennent à deux chaînes différentes d'acides gras.
- un pic intense autour de δ_H 1.29, correspondant aux méthylènes des chaînes de deux acides gras.
- un multiplet à δ_H 2.33, correspondant aux méthylènes en position α des fonctions carbonyles.
- un signal à δ_H 1.60 correspondant aux méthylènes en position β des fonctions carbonyles.
- des protons oléfiniques observés à δ_H 5.35 et δ_H 5.37 et des protons allyliques à δ_H 2.06 et δ_H 2.78.

- des signaux correspondant à des protons portés par des carbones liés à des oxygènes à δ_H 4.19, 4.05 (Ha-1', Hb-1'), 5.20 (H-2') et 3.97(H-3')

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C du composé **AT6** montre :

- un signal correspondant aux méthyles terminaux des deux chaînes d'acides gras à δ_C 13.0
- les carbones en position α et β des carbonyles résonnent à δ_C 33.6 et 24.5 respectivement.
- les carbones en position α et β des méthyles terminaux résonnent à δ_C 22.2 et 31.2 respectivement.
- les carbones de la chaîne méthylène de l'acide gras résonnent autour de δ_C 29.3.
- les carbones quaternaires qui résonnent à δ_C 176.6 correspondant aux fonctions carbonyles.
- des carbones oléfiniques résonnant à δ_C 127.6 et δ_C 129.4, des carbones allyliques résonnant à δ_C 25.1 et δ_C 26.7.
- trois carbones liés à des oxygènes résonnent à δ_C 62.7 (C-1'), 69.7 (C-2') et 63.5 (C-3').

Spectre HSQC

Le spectre HSQC permet d'attribuer à chaque carbone les hydrogènes qu'il porte à partir des corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$ (Tableau 26).

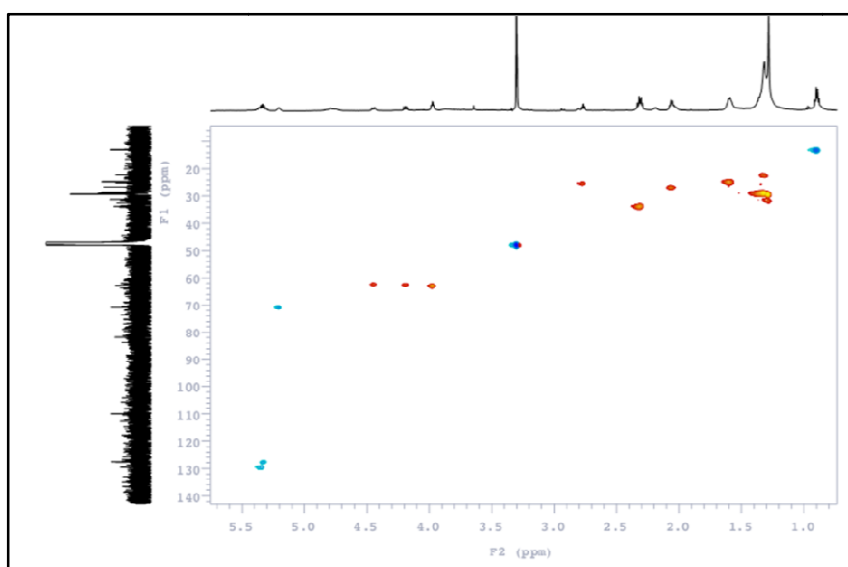


Figure 97 : Spectre HSQC du composé **AT6**.

Tableau 26 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **AT6** dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_C	δ_H
Carbones du groupement carbonyle	176,6	-
Carbones en position α du carbonyle	33,6	2.33
Carbones en position β du carbonyle	24,5	1.60
Carbones du groupe méthyle	13	0.90
Carbones en position α du méthyle	22,2	1.30
Carbones en position β du méthyle	31,2	1.28
Carbones oléfiniques	127,6 et 129,4	5.35 et 5.37
Carbones allyliques	25,1 et 26,7	2.06, 2.78
Carbones des chaines méthylènes	29,3	1.29
Glycérol		
1'	62.7	4.05
		4.19
2'	69.7	5.20
3'	63.5	3.97

Spectre HMBC

Cette expérience permet d'observer les corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ et permet ainsi de déterminer la plupart des carbones et des hydrogènes de la molécule :

- les protons des méthyles CH₃-terminaux à δ_H 0.90 corrént avec δ_C 22.2 (C-18) et 31.2 (C-17).
- les protons du méthylène CH₂-2 à δ_H 2.33 corrént avec δ_C 24.5 (C-3), 29.3, 176.6 (C-1').
- le proton H-1' du glycérol à δ_H 4.05 corréle avec δ_C 69.7 (C-2'), et δ_C 176.6 (C-1).

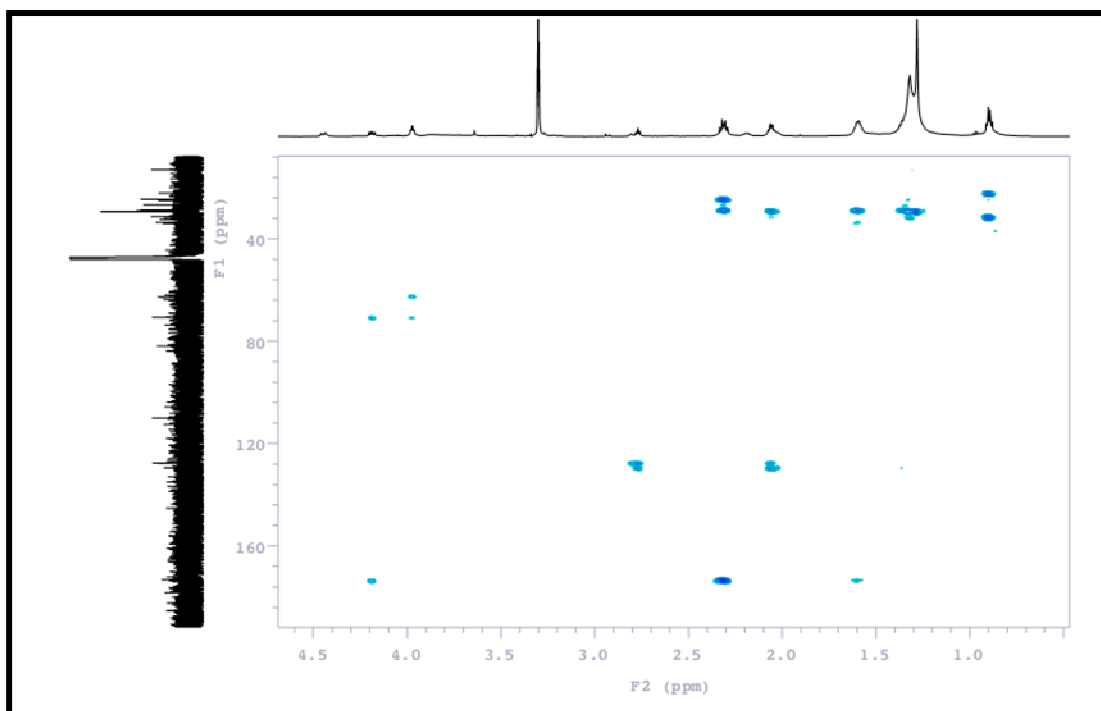


Figure 98 : Spectre HMBC du composé AT6.

Conclusion

L'analyse des spectres RMN 1D et 2D ne nous permet pas de déterminer la longueur des chaînes d'acides gras ni la position de la double liaison. L'analyse du spectre de masse suggère la présence de deux acides gras dans l'acide phosphatidique et dont le nombre total de carbones est de 36. La configuration de la double liaison est *cis*, elle est justifiée par le déplacement chimique des carbones allyliques à δ_C 25.1 et 26.5 lesquels sortiraient à plus de 30 ppm si la configuration était *trans* (Cateni., 2003). Donc, la structure primaire de ce composé est la suivante (Gillet., 1998) :

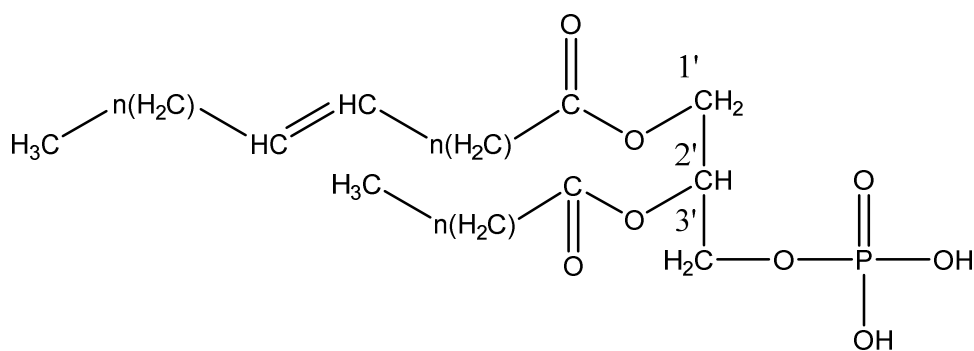


Figure 99 : Structure chimique du composé naturel AT6.

V.1.4. Description du composé AT7

Le composé AT7 se présente sous forme d'une poudre jaune.

Spectrométrie de masse

Sur le spectre de masse réalisé en ESI-MS en mode négatif, nous observons un ion pseudo-moléculaire à m/z 413 $[M-H]^+$ suggérant une masse atomique de 414 uma, compatible avec la masse brute de $C_{29}H_{50}O$.

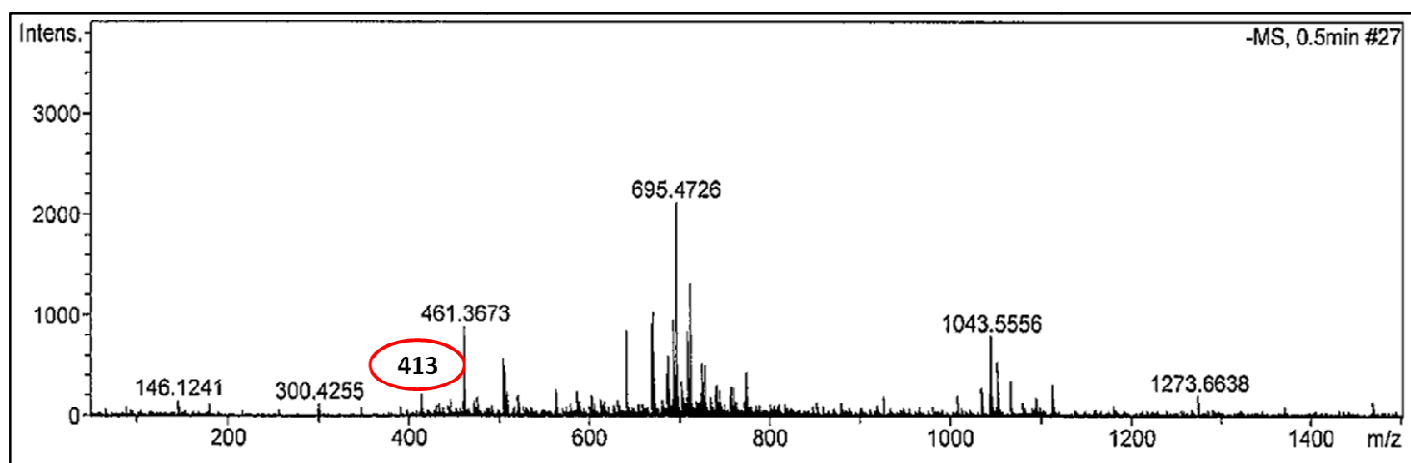


Figure 100 : Spectre de masse en ESI-MS en mode négatif du composé AT7.

Spectrométrie RMN

Spectre RMN¹H

L'analyse du spectre RMN¹H révèle la structure d'un triterpène avec la présence de :

- des signaux caractéristiques de groupements méthyles à 0.69 (s, H₃-18), 1.00 (s, H₃-19), 0.93 (H₃-21), 0.82 (H₃-26), 0.84 (H₃-27) et 0.85 (H₃-29).
- un massif de protons qui résonnent entre δ_H 0.93 et 2.01 correspondant aux CH- et CH₂- de la molécule.
- un signal avec un déplacement chimique élevé, dans la zone des protons oléfiniques à δ_H 5.30 (H-6). Il est déblindé du fait de la double liaison.
- un signal à δ_H 3.40 (H-3) porté par un carbone hydroxylé.

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C montre la présence de :

- 29 atomes de carbones.
- des signaux caractéristiques correspondants aux groupements méthyles à δ_C 11.1 (CH₃-18), 18.6 (CH₃-19), 18.0 (CH₃-21), 18.1 (CH₃-26), 18.9 (CH₃-27), et 11.1 (CH₃-29).
- un ensemble de carbones résonnant entre δ_C 20.6 et 56.7 attribués aux CH-, CH₂- de la génine
- un carbone quaternaire à δ_C 140.7 (C-5), un autre carbone résonne à δ_C 121.1 (C-6). Ces valeurs élevées suggèrent une double liaison entre C-5 et C-6.
- un carbone déblindé à δ_C 71.0 (C-3), du fait de la présence d'un hydroxyle.

Spectre HSQC

L'analyse du spectre HSQC permet d'observer les corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$ et d'attribuer pour chaque carbone les hydrogènes qu'il porte, ce qui a conduit aux valeurs δ_C/δ_H reportées sur le tableau 27.

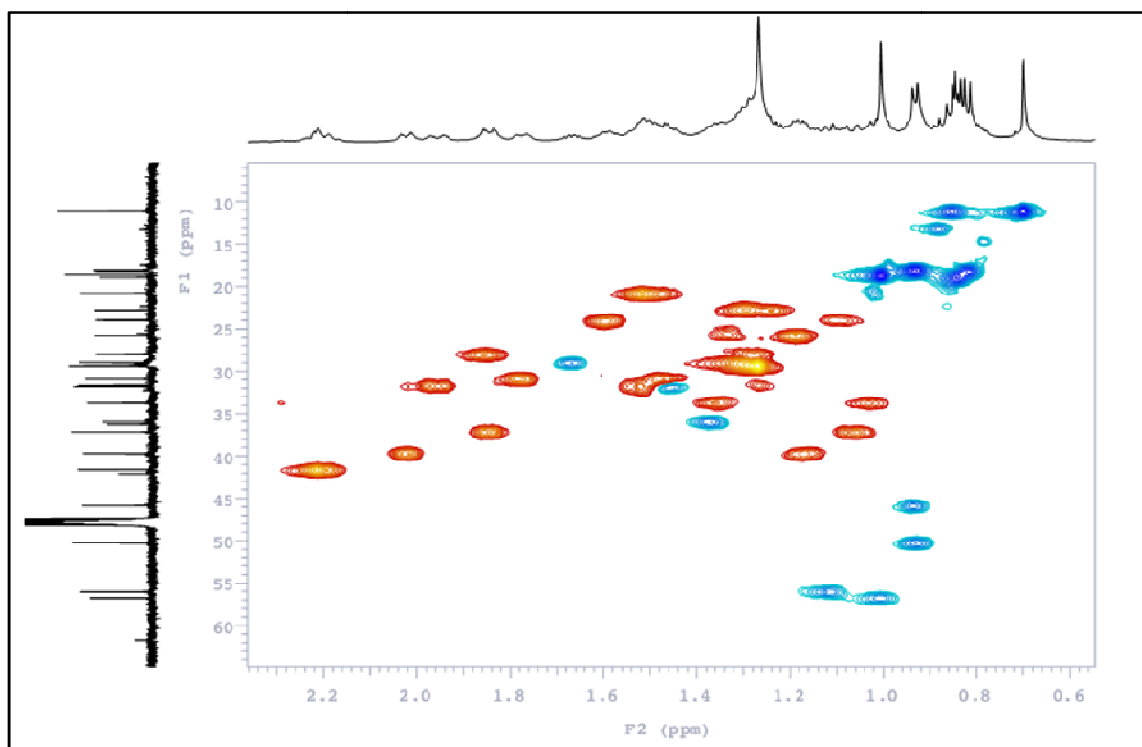


Figure 101 : Spectre HSQC du composé AT7.

Tableau 27 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **AT7** dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_{H}	δ_{C}
1	1.83, 1.85	37.1
2	1.48, 1.78	30.8
3	3.40	71.0
4	2.01	41.6
5	-	140.7
6	5.30	121.1
7	1.57, 1.97	31.6
8	1.45	31.8
9	0.93	50.2
10	-	36.2
11	1.51	20.8
12	1.17, 2.02	39.7
13	-	42.1
14	1.13	56.7
15	1.27, 1.85	27.9
16	1.19, 1.35	25.8
17	1.13	56.0
18	0.69 s	11.1
19	1.00 s	18.6
20	1.37	36.0
21	0.93 s	18.0
22	1.03, 1.27	33.7
23	1.10, 1.59	23.9
24	0.93	45.8
25	1.66	28.9
26	0.82 s	18.1
27	0.84 s	18.9
28	1.24, 1.29	22.7
29	0.85 s	11.1

Spectre HMBC

L'analyse du spectre HMBC révèle les corrélations hétéronucléaires $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ suivantes :

- Les protons CH₃-18 à δ_H 0.69 corrélient avec les carbones C-12 à δ_C 39.7, C-13 à δ_C 42.1, et C-17 à δ_C 56.0.
- Les protons CH₃-19 à δ_H 1.00 corrélient avec les carbones C-1 à δ_C 37.1, C-2 à δ_C 30.8, et C-9 à δ_C 50.2.
- Les protons CH₃-21 à δ_H 0.93 corrélient avec les carbones C-17 à δ_C 56.0, C-20 à δ_C 36.0, et C-22 à δ_C 33.7.
- Les protons CH₃-26 à δ_H 0.82 corrélient avec les carbones C-25 à δ_C 28.9, C-27 à δ_C 18.9, et C-24 à δ_C 45.8.
- Les protons CH₃-27 à δ_H 0.84 corrélient avec les carbones C-25 à δ_C 28.9, C-26 à δ_C 18.1, et C-24 à δ_C 45.8.
- Les protons CH₃-29 à δ_H 0.85 corrélient avec les carbones C-28 à δ_C 22.7, C-24 à δ_C 45.8, et C-25 à δ_C 28.9.

Conclusion

Les résultats obtenus sont compatibles avec la structure de **β -sitostérol** (Safder et al., 2009).

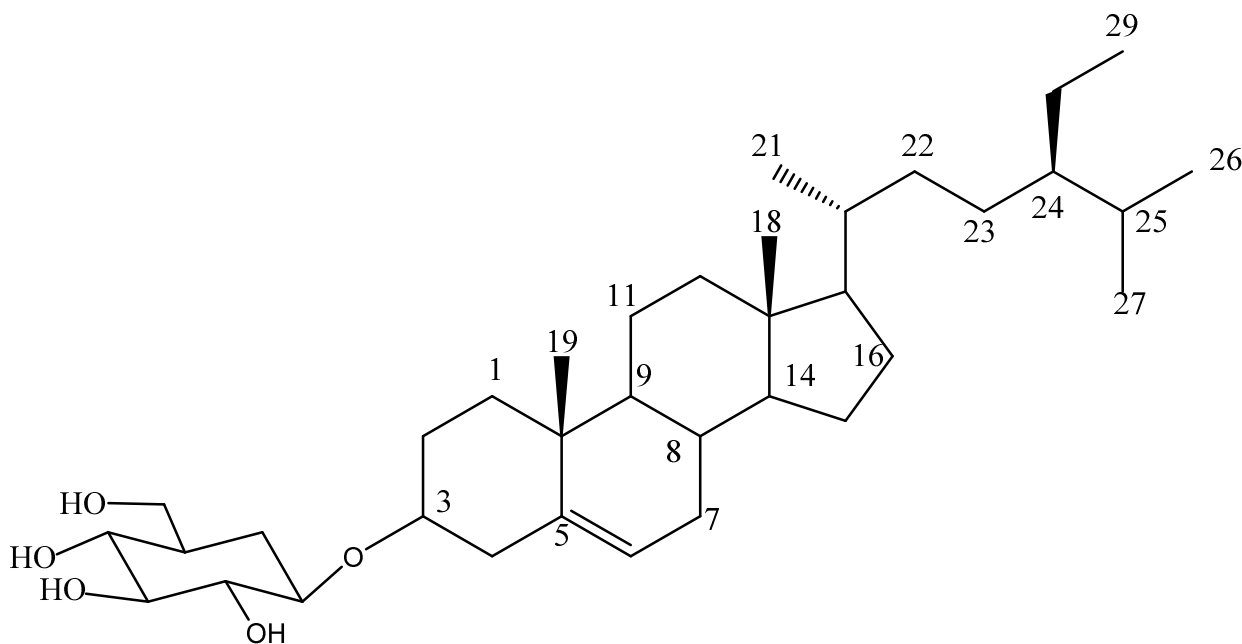


Figure 102 : Structure du composé naturel AT7.

V.1.5. Description du composé AT8

Ce composé se présente sous forme d'une poudre jaune.

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse obtenu en ESI-MS en mode positif du composé **AT8** révèle un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 393 $[M+Na]^+$, suggérant une masse moléculaire de 370 uma, correspondant à une formule brute de $C_{22}H_{42}O_4$.

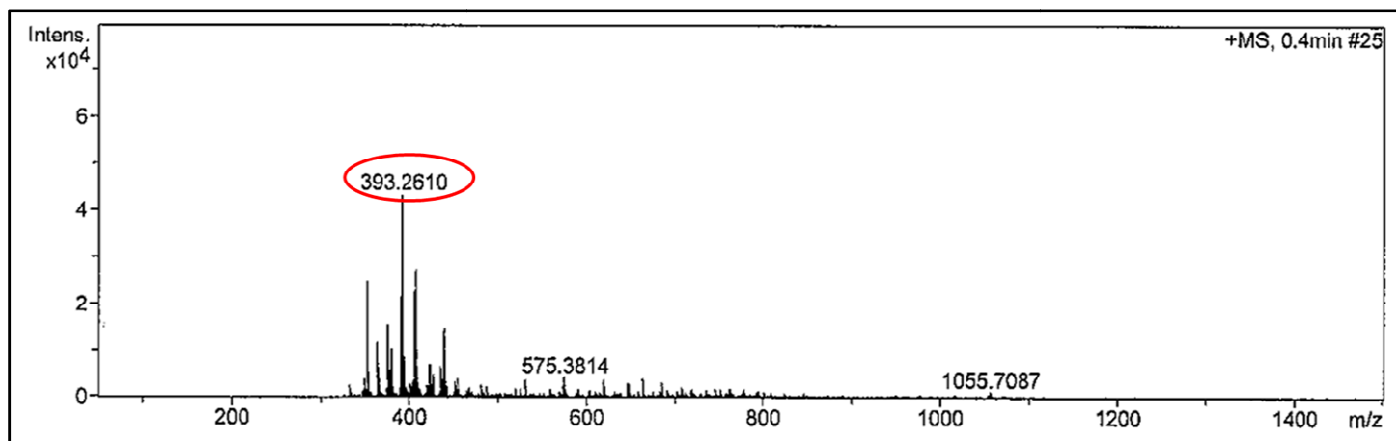


Figure 103 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **AT8**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

Le spectre RMN¹H montre la structure d'une monoglycéride avec la présence de :

- un triplet à δ_H 0.90 (t, $J = 6.4$ Hz), correspondant au groupement méthyle CH_3 -19 terminal.
- un pic intense autour de δ_H 1.29 du aux méthylènes dans la chaîne de l'acide gras.
- un autre triplet à δ_H 2.34 (t, $J = 6.4$ Hz), correspondant au méthylène en position α de la fonction carbonyle.
- un signal à δ_H 1.61 correspondant au méthylène en position β de la fonction carbonyle.
- des protons du motif glycériques observés à δ_H 4.05 (dd, $J = 11.1, 4.1$), δ_H 4.14 (dd, $J = 11.1, 5.8$) correspondant aux protons H-1', et à δ_H 3.80 (H, m) correspondant au proton H-2' et à δ_H 3.54 (q, $J = 5.2, 3.5$) correspondant aux protons H-3'.
- deux protons oléfiniques qui résonnent à δ_H 5.33 et un proton allylique à δ_H 2.04 (le deuxième proton allylique est non déterminé).

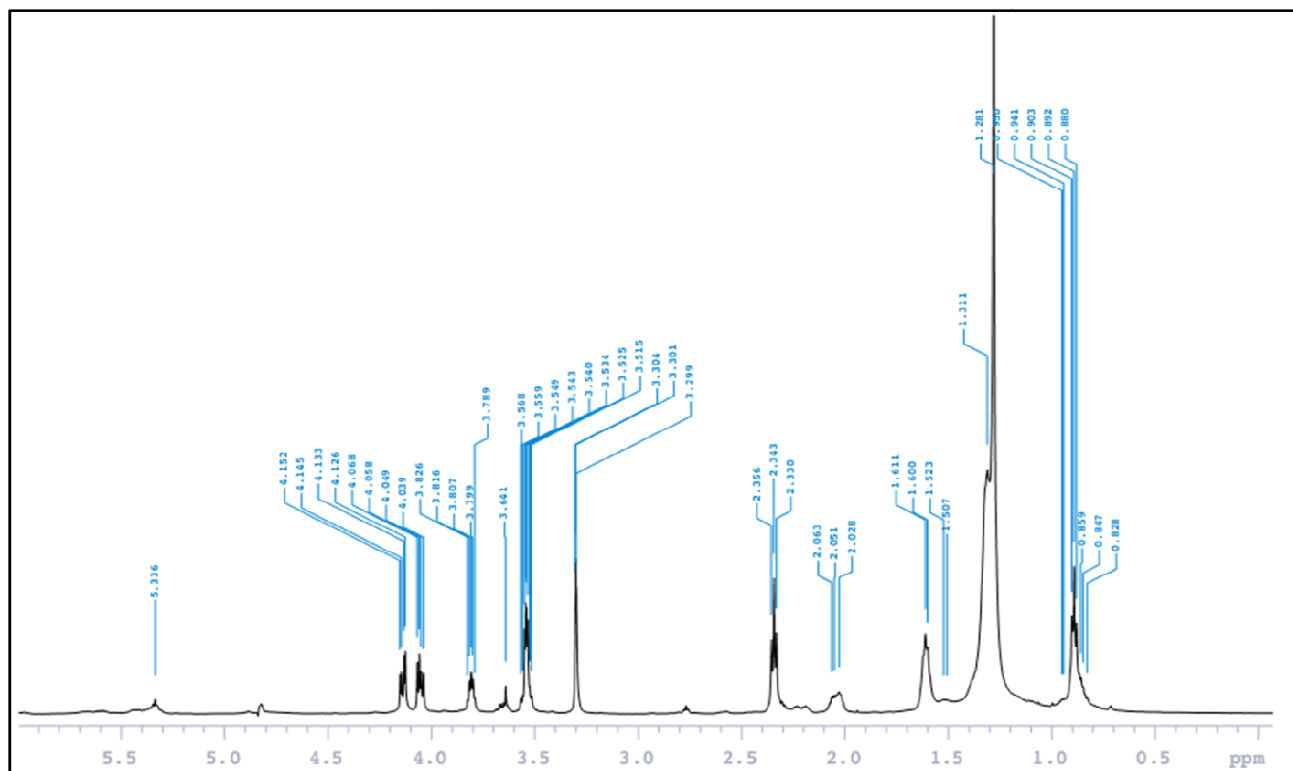


Figure 104 : Spectre RMN¹H du composé AT8.

Spectre RMN¹³C

Dans le spectre RMN¹³C, on observe les caractéristiques suivantes :

- un signal correspondant au méthyle terminal à δ_C 12.9.
- les carbones en position α et β du carbonyle résonnent à δ_C 33.5 et 24.5 respectivement.
- les carbones en position α et β du méthyle terminal résonnent à δ_C 22.3 et 31.6 respectivement.
- les carbones de la chaîne méthylène de l'acide gras résonnent à δ_C 29.0.
- un carbone quaternaire qui résonne à δ_C 174.8 correspondant à la fonction carbonyle.
- deux carbones oléfiniques à δ_C 129.0 et 130.0 et un carbone allylique à δ_C 26.3 (le deuxième carbone allylique est non déterminé).

Spectre HSQC

Le spectre HSQC permet de comprendre les corrélations hétéronucléaires $^1J_{\text{H-C}}$ et permet de ce fait d'attribuer à chaque carbone les hydrogènes qu'il porte. Les valeurs des déplacements chimiques des carbones et des hydrogènes sont portées sur le tableau 28.

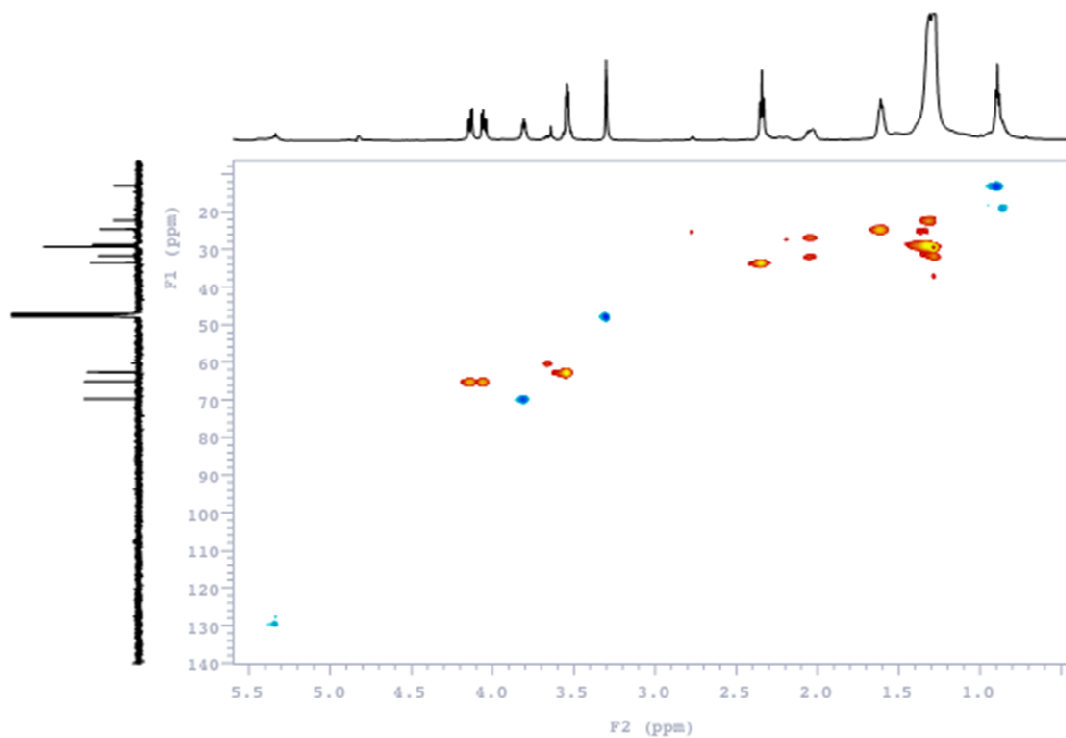


Figure 105 : Spectre HSQC du composé AT8.

Tableau 28 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **AT8** dans le méthanol (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_H	δ_C
1	-	174.8
2	2.34 t (6.4)	33.5
3	1.61	24.5
4	1.29	29.0
5	1.29	29.0
6	1.29	29.0
7	1.29	29.0
8	2.04	26.3
9	5.33	129.0
10	5.33	130.0
11	Nd	Nd
12	1.29	29.0
13	1.29	29.0
14	1.29	29.0
15	1.29	29.0
16	1.29	29.0
17	1.29	31.6
18	1.3	22.3
19	0.9	12.9
Carbones oléfiniques	129.0 et 130.0	5.33
Carbones allyliques	26.3 et nd	2.02 et nd
1'	4.05 dd (11.1, 4.1) 4.14 dd (11.1, 5.8)	65.0
2'	3.80 m	69.7
3'	3.54 q (5.2, 3.5)	62.6

Spectre HMBC

Cette expérience permet d'observer les corrélations $^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$ et permet ainsi de déterminer la plupart des carbones et des hydrogènes de la molécule :

- les protons du méthyle CH_3 -19 à δ_H 0.90 corrélient avec δ_C 22.3 (C-18) et 31.6 (C-17).
- les protons du méthylène CH_2 -2 à δ_H 2.34 corrélient avec δ_C 24.5 (C-3), 29.0 (C-4 à 16) 174.8 (C-1).
- le proton H-1' du glycérol à δ_H 4.05 corrélie avec δ_C 62.6 (C-3'), 69.7 (C-2') et 174.8 (C-1).

L'analyse des spectres RMN 1D et 2D ne nous permet pas de déterminer la longueur de la chaîne d'acide gras. Elle est déterminée d'après l'analyse du spectre de masse qui donne un poids moléculaire de 370 et qui suggère une chaîne de l'acide gras de 19 atomes de carbone. Cependant la position de la double liaison n'a pas pu être déterminée mais elle est supposée être en C-9 (position commune). Sa configuration est *cis* du faite du déplacement chimique du carbone allylique situé à δ_C 26.3.

Conclusion

Au vu des données exposées, la structure du composé AT8 a été identifiée comme étant **1-Glycérol 9-nonadécénoate** (Khannoon et Eraqi, 2012).

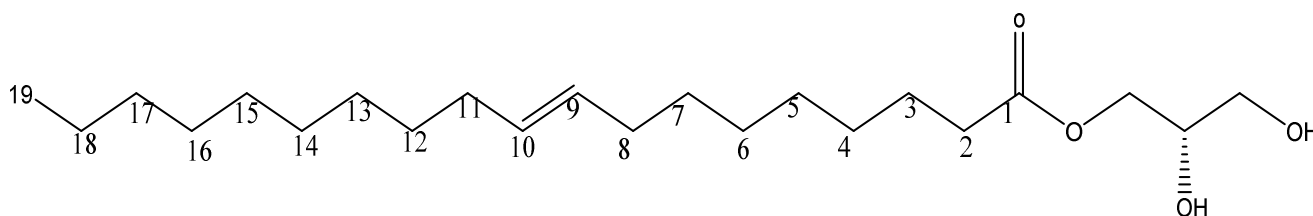


Figure 106 : Structure du composé naturel AT8.

V.2. Composés isolés de *Bupleurum Spinosum* Cav.

Contrôle des composés isolés de B. spinosum purs par HPLC analytique

Les deux composés **BS5** et **BS6** ont été injectés séparément dans 10 µl environ d'une solution eau-acétonitrile (70 : 30) avec un débit de 1 ml/min.

Les deux composés **BS2** et **BS3** ont été injectés séparément puis réunis dans la même solution eau-acétonitrile (70 : 30) (débit de 1 ml/min) afin de comparer le profil des deux composés.

La figure 107 illustre le profil chromatographique obtenu avec les deux composés **BS5** et **BS6**. Les pics observés correspondent aux molécules injectées. On comparant les deux profils, on constate que les deux composés sont élués à des temps différents, ce qui confirme leur nature différente.

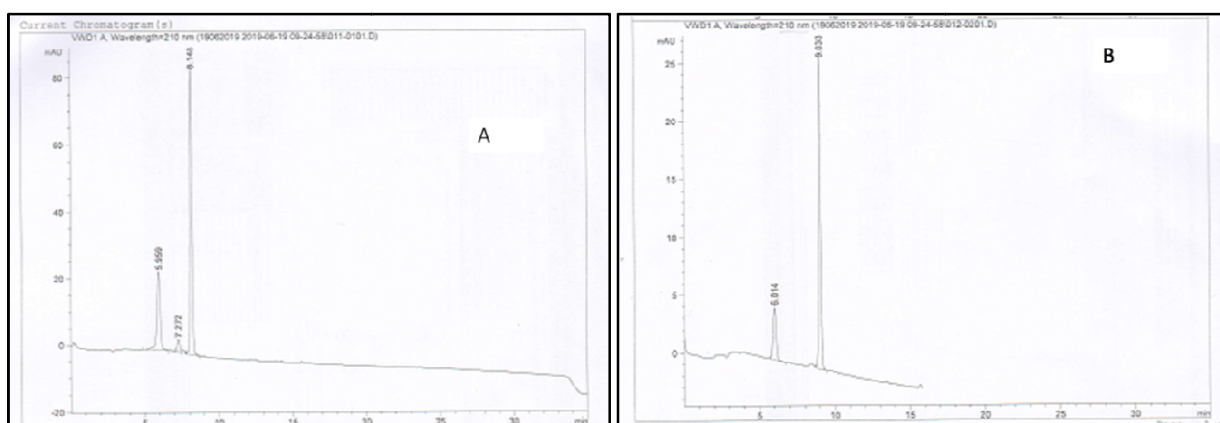


Figure 107 : Comparaison des profils obtenus en HPLC analytique pour les composés **BS5** et **BS6** (A : composé **BS5**, B : composé **BS6**).

La figure 105 illustre la séparation chromatographique entre les deux composés **BS2** et **BS3** qui sont élués sur une plage de temps très courte, la présence de deux pics différents confirment leurs natures différentes.

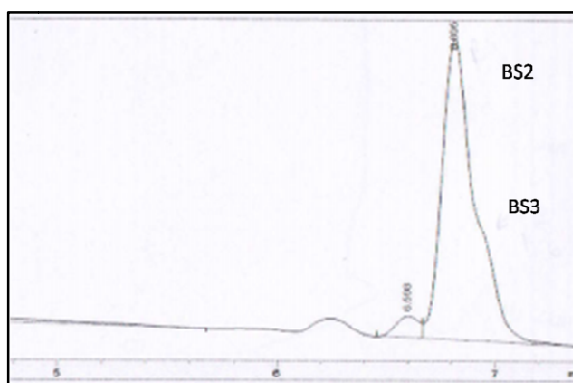


Figure 108 : Comparaison des profils obtenus en HPLC analytique pour les composés **BS2** et **BS3**.

Les composés **BS1-BS8** se présentent sous forme de poudres blanches.

V.2.1. Description du composé **BS1**

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse obtenu en ESI-MS en mode positif du composé **BS1** révèle un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 1129 $[M+Na]^+$, suggérant une masse moléculaire de 1106 uma, correspondant à une formule brute de $C_{54}H_{90}O_{23}$.

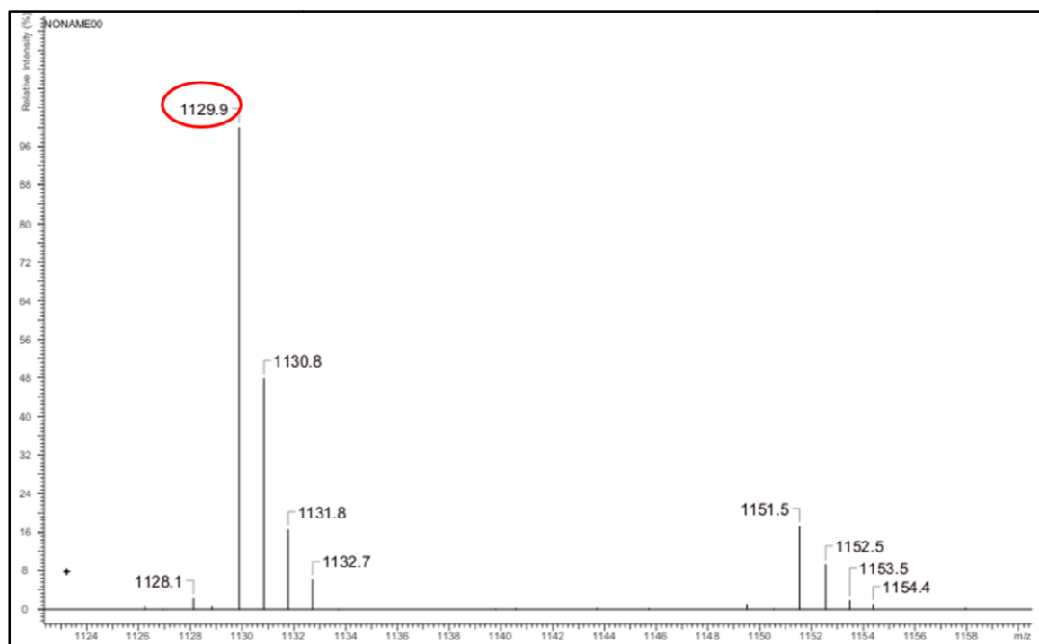


Figure 109 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **BS1**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

L'analyse du spectre RMN¹H révèle la présence de :

- six fins singulets, correspondants à des groupements méthyles, à δ_H 1.07 (H₃-24), 0.90 (H₃-25), 1.02 (H₃-26), 1.26 (H₃-27), 0.91 (H₃-29), 0.99 (H₃-30).
- un massif de protons résonnant entre δ_H 1.16 et 2.78 correspondant aux CH- et CH₂- de la génine triterpénique.
- un triplet correspondant au proton oléfinique, à δ_H 5.23 (br t, $J = 3.7$ Hz, H-12). Il est déblindé du fait de la double liaison.

- deux protons à δ_H 4.61 (H-16) et δ_H 4.10 (H-3), portés respectivement par des carbones hydroxylés à ces positions.
- deux paires de protons géminaux portés respectivement par leurs carbones oxydés à δ_H 3.73, 4.35 (H-23a, H-23b) et à δ_H 3.67, 4.42 (H-28a, H-28b).

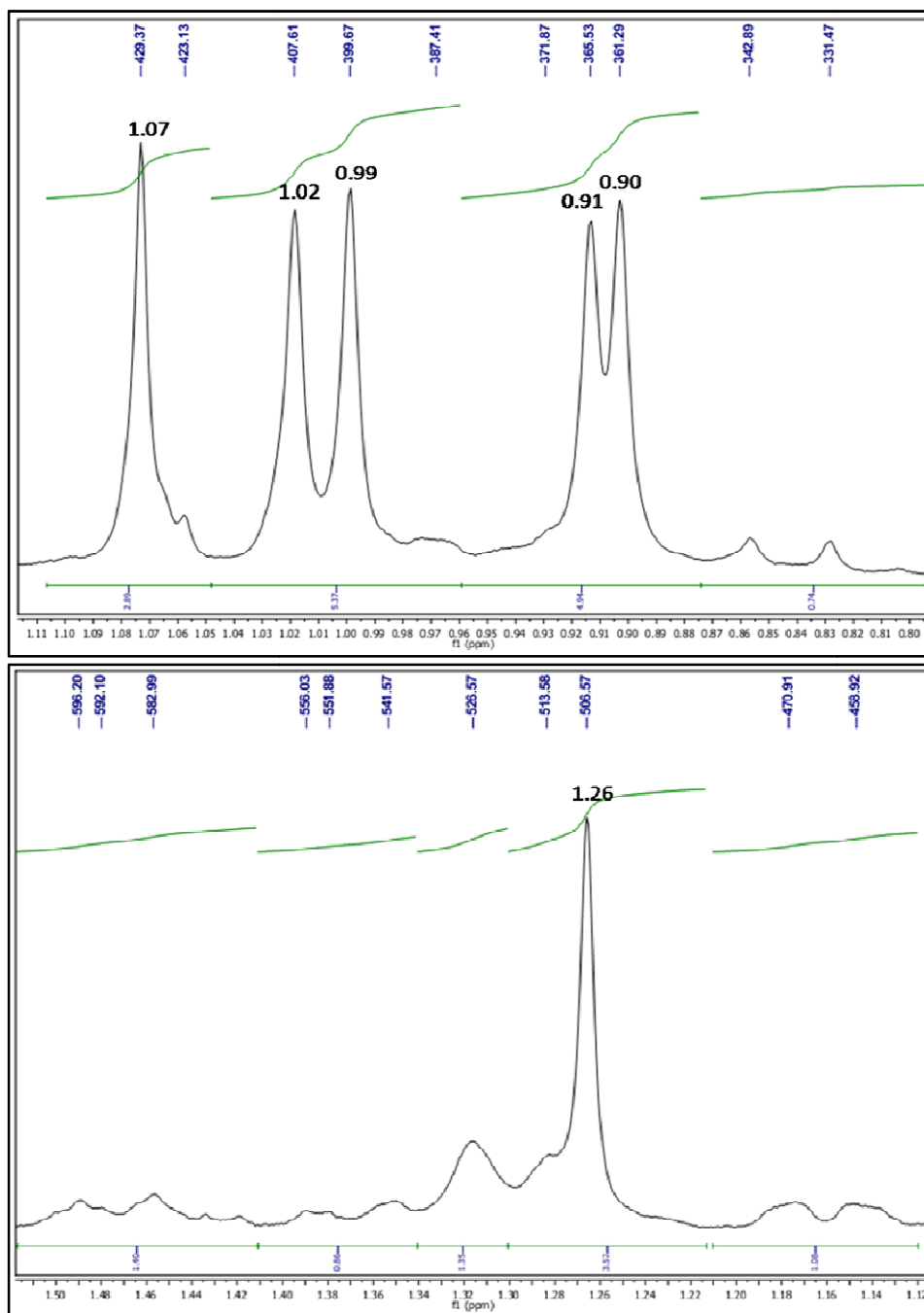


Figure 110 : Spectre RMN ^1H du composé **BS1** (zone des méthyles).

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C affiche clairement :

- 54 signaux correspondant aux atomes de carbone de la molécule, dont 30 sont ceux de la génine et les 24 restants appartiennent à la chaîne osidique.
- six signaux caractéristiques correspondant aux groupements méthyles à δ_C 13.3 (CH₃-24), 16.1 (CH₃-25), 16.8 (CH₃-26), 27.0 (CH₃-27), 33.3 (CH₃-29) et 24.0 (CH₃-30).
- un ensemble de carbones résonnant entre δ_C 18.1 et 47.8 attribués aux CH-, CH₂- de la génine.
- un carbone quaternaire à δ_C 143.8 (C-13) et un autre carbone résonnant à δ_C 122.6 (C-12), suggérant une double liaison entre C12 et C13 dans l'aglycone.
- deux carbones C-3 et C-16 déblindés à δ_C 82.6 et 66.5, respectivement, du fait de la présence d'hydroxyles et de la substitution du C-3.
- deux carbones oxydés ont été observés à δ_C 64.7 (C-23) et 68.7(C-28).

Spectre HSQC

Le spectre HSQC permet d'associer un carbone protoné aux hydrogènes qu'il porte, par l'analyse des corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$ observées, ce qui a conduit aux valeurs δ_C/δ_H reportées sur le tableau 29.

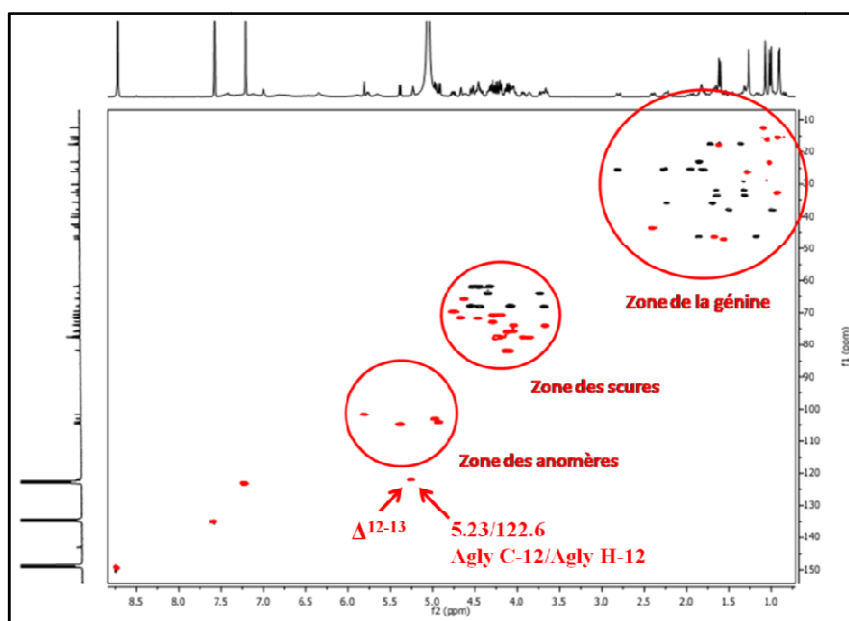


Figure 111 : Spectre HSQC du composé BS1.

Tableau 29 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS1** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_C	δ_H	Posit.	δ_C	δ_H
1	38.7	0.97, 1.49 m	3-O-Glc I		
2	26.0	1.80, 2.78 m	1	103.9	4.96 d (7.3)
3	82.6	4.10	2	82.7	4.10
4	43.5	-	3	76.5	4.06
5	47.8	1.53	4	78.5	4.25
6	18.1	1.32, 1.69	5	74.8	3.67
7	32.5	1.32, 1.62	6	68.8	4.07, 4.55
8	40.1	-	Glc II		
9	47.1	1.65	1	104.9	4.92 d (7.7)
10	36.5	-	2	74.7	4.04
11	23.8	1.82	3	78.0	4.23
12	122.6	5.23 t (3.7)	4	71.3	4.19
13	143.8	-	5	78.4	3.86 m
14	43.7	-	6	62.7	4.32, 4.47
15	36.7	1.86, 2.22	Glc III		
16	66.5	4.61	1	105.5	5.38 d (7.6)
17	40.9	-	2	76.7	4.12
18	44.3	2.39 dd (13.7, 4.6)	3	78.3	4.20
19	47.0	1.16 m, 1.86	4	71.6	4.29
20	31.0	-	5	78.3	3.92 m
21	34.2	1.28, 1.60	6	62.5	4.34, 4.51
22	26.1	1.94 m, 2.30 m	Rha		
23	64.7	3.73, 4.35	1	102.5	5.81 s
24	13.3	1.07 s	2	72.3	4.66 s ²
25	16.1	0.90 s	3	72.6	4.46
26	16.8	1.02 s	4	73.7	4.29
27	27.0	1.26 s	5	70.3	4.75 dq (9.5, 6.3)
28	68.7	3.67, 4.42	6	18.4	1.61 d (6.3)
29	33.3	0.91 s			
30	24.0	0.99 s			

Spectre HMBC

Cette expérience permet d'établir les couplages hétéronucléaires à longue distance avec les constantes de couplages $^2J_{H-C}$ ou $^3J_{H-C}$ et ainsi établir les connectivités entre protons et carbones :

- la corrélation à δ_H/δ_C 1.07 (H₃-24)/43.5 (C4), 47.8 (C-5), 64.7 (C-23) et 82.6 (C-3) permet d'attribuer un hydroxyméthyle dans la position C-23, une fonction alcoolique en C-3, un carbone quaternaire en C-4 et de confirmer la position du carbone en C-5.

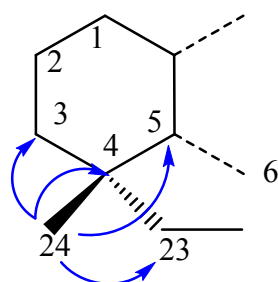


Figure 112 : Corrélation $^2J_{H-C}$, $^3J_{H-C}$, et $^4J_{H-C}$ des protons CH₃-24 dans la génine du composé **BS1**.

- la corrélation à δ_H/δ_C 0.90 (H₃-25)/38.7 (C-1), 47.8 (C-5), 47.1 (C-9) et 36.5 (C-10) confirme la position du carbone quaternaire en 10 et des carbones en C-1, C-5 et C-9.

- la corrélation à δ_H/δ_C 1.02 (H₃-26)/32.5 (C-7), 40.1 (C-8), 47.1 (C-9) et 43.7 (C-14) confirme la position du carbone quaternaire en C-8 et les positions des carbones en C-7, C-9 et C-14.

- la corrélation à δ_H/δ_C 1.26 (H₃-27)/40.1 (C-8), 43.7 (C-14), 36.7 (C-15) et 143.8 (C-13) confirme la position de deux carbones quaternaires en C-13 et C-14, de la double liaison en C12 et C-13, et des carbones en C-8 et C-15.

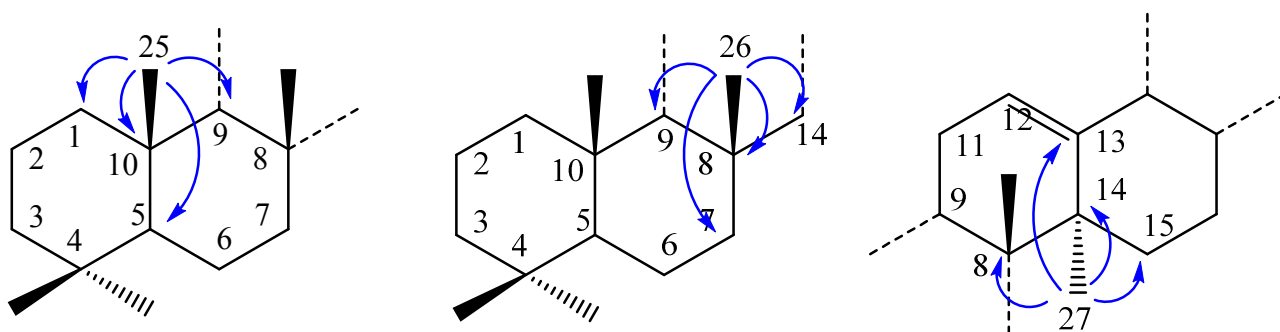


Figure 113 : Corrélation $^2J_{H-C}$, $^3J_{H-C}$, et $^4J_{H-C}$ des protons CH₃-25, CH₃-26 et CH₃-27 dans la génine du composé **BS1**.

- les protons des méthyles en CH₃-29 à δ_H 0.91 et CH₃-30 à δ_H 0.99 sont confirmés par leurs corrélations avec δ_C 47.0 (C-19), 31.0 (C-20) et 34.2 (C-21). Leur distinction, se fait grâce à la différence de déplacement chimique, des carbones C-29 à δ_C 33.3 et C-30 à δ_C 24.0 ppm à cause de la position α -axiale du C-29 (valeur déblindée) et de la position β -équatoriale du C-30 (Valeur blindée).

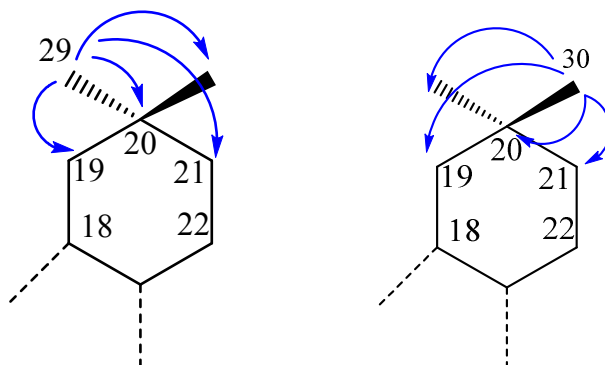


Figure 114 : Corrélation $^2J_{H-C}$, $^3J_{H-C}$, et $^4J_{H-C}$ des protons CH₃-29 et CH₃-30 dans la génine du composé **BS1**.

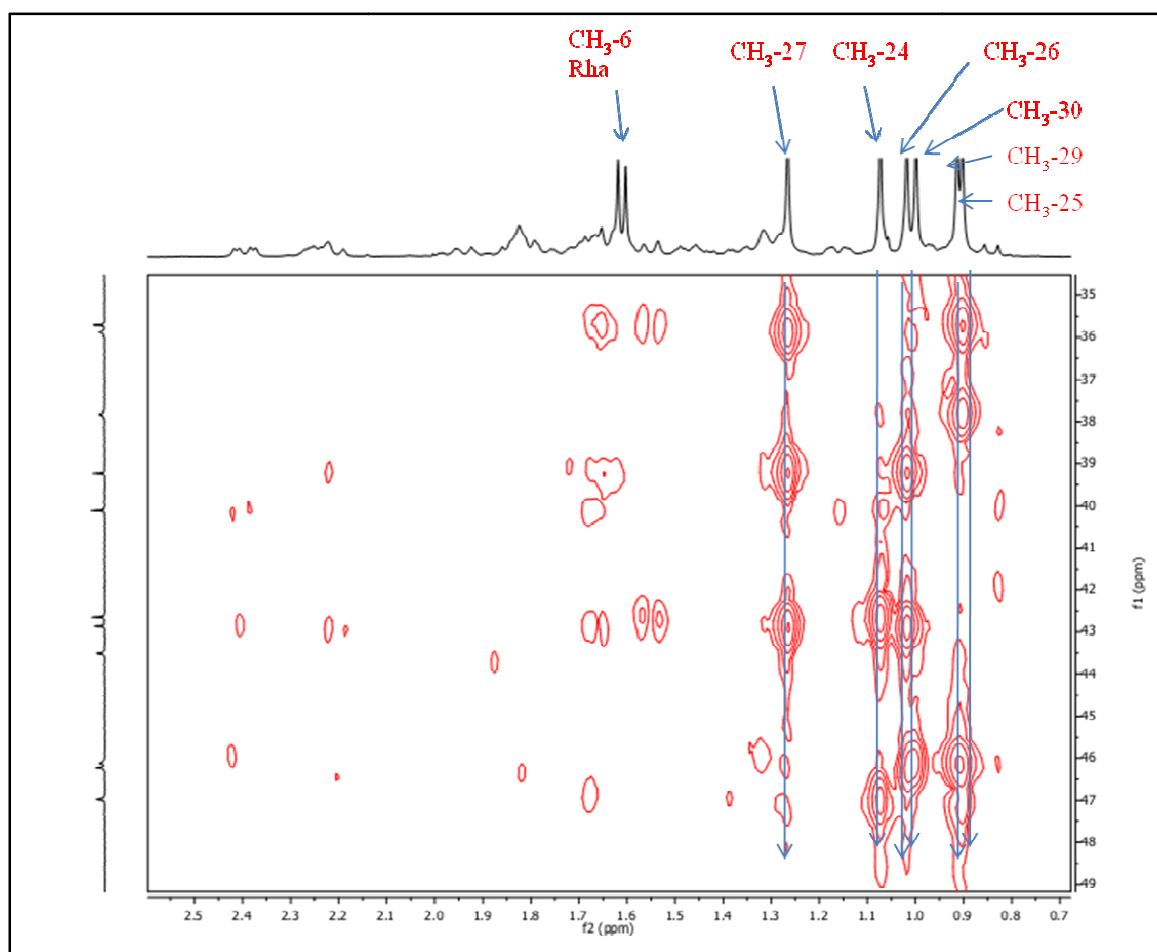


Figure 115 : Spectre HMBC du composé **BS1** montrant les corrélations des méthyles.

Spectre NOESY

Les taches de corrélation (pics hors diagonaux) (voir figure 116) du spectre NOESY traduisent une interaction dipolaire, donc une certaine proximité spatiale entre les spins considérés. Cette expérience permet d'établir la stéréochimie des carbones asymétriques.

La corrélation de δ_H 4.61 (H-16) avec δ_H 1.26 (H₃-27) suggère une orientation α -équatoriale de H-16, donc une β -orientation de OH-16. La configuration β de 3-OH a été déterminée par la corrélation δ_H 4.10 (H-3) avec δ_H 1.53 (H-5).

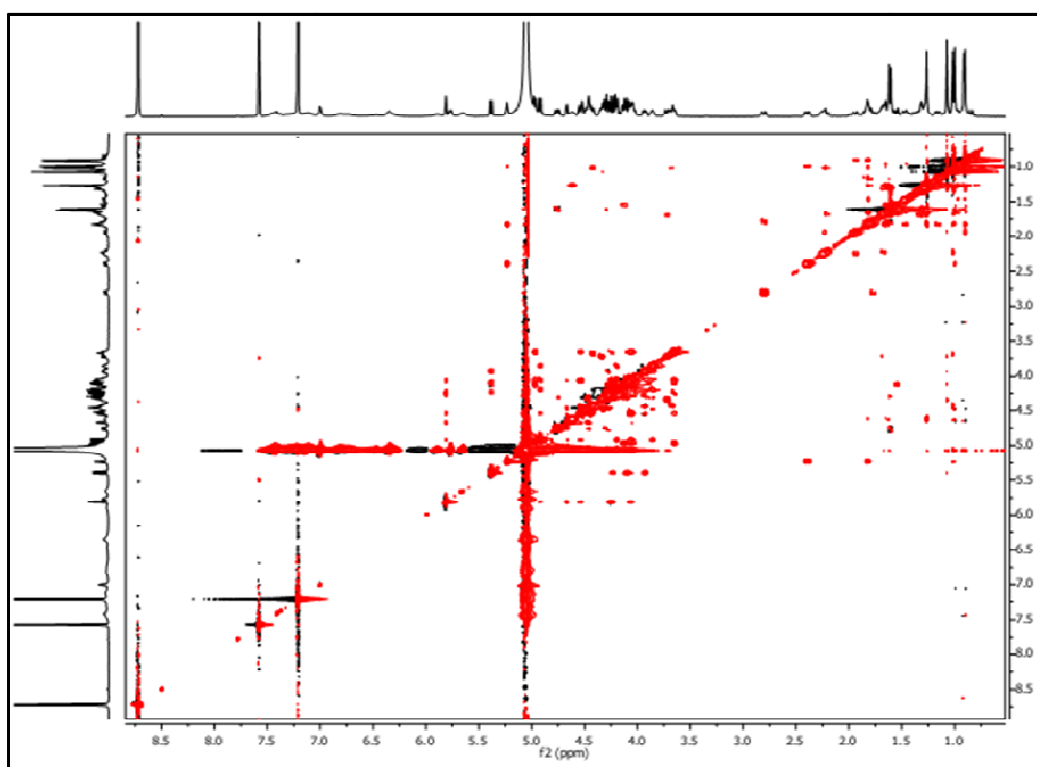


Figure 116 : Spectre NOESY de la partie aglycone du composé **BS1**.

Structure de la génine du composé BS1

L'ensemble des données ci-dessus a permis d'élucider la génine du composé **BS1** comme étant : $3\beta,16\beta,23,28$ -tetrahydroxyoléan-12-ene, ou 23 hydroxylongispinogenin, déjà caractérisée dans plusieurs espèces de *Bupleurum* (Tori et al., 1976).

Partie osidique

Les composés **BS1** – **BS6** isolés à partir de *B. spinosum* ont présenté la même structure osidique, le même enchainement de sucres (avec plus ou moins un sucre) et le même site de fixation à l'aglycone en C-3. Une comparaison des spectres de RMN 1D et 2D des différents composés a facilité l'interprétation.

L'analyse du spectre COSY ^1H - ^1H , complétée par celle du TOCSY, HMBC et NOESY à partir de chaque anomère permet d'identifier la nature des sucres.

Dans les spectres RMN ^1H des composés, les relatives grandes valeurs des constantes de couplage $^3J_{\text{H-1, H-2}}$ des protons anomériques (7.6, 7.7, 7.3 Hz) ont indiqué une orientation β pour le glucose. Le singulet large du signal du proton anomérique du rhamnose a indiqué une orientation α . Les configurations absolues des sucres ont été déterminées D pour le glucose et L pour le rhamnose par CPG, après hydrolyse acide (Hara et al., 1987).

Détermination de la nature des sucres

L'analyse du spectre HSQC de **BS1** permet de distinguer quatre protons anomériques dont trois sont sous forme de doublets résonnant à 4.96 (1H, *d*, $J = 7.3$), 4.92 (1H, *d*, $J = 7.7$) et 5.38 (1H, *d*, $J = 7.6$) et le dernier sous forme d'un singulet large à 5.81 (s) corrélant avec les signaux de quatre carbones à δ_{C} 103.9, 104.9, 105.5 et 102.5, respectivement, ce qui prouve la présence de quatre sucres. L'analyse approfondie des spectres RMN-1D et 2D a permis de caractériser :

- Trois β -D-glucopyranosyles (Glc I, Glc II et Glc III).
- Un α -L-rhamnopyranosyl (Rha).

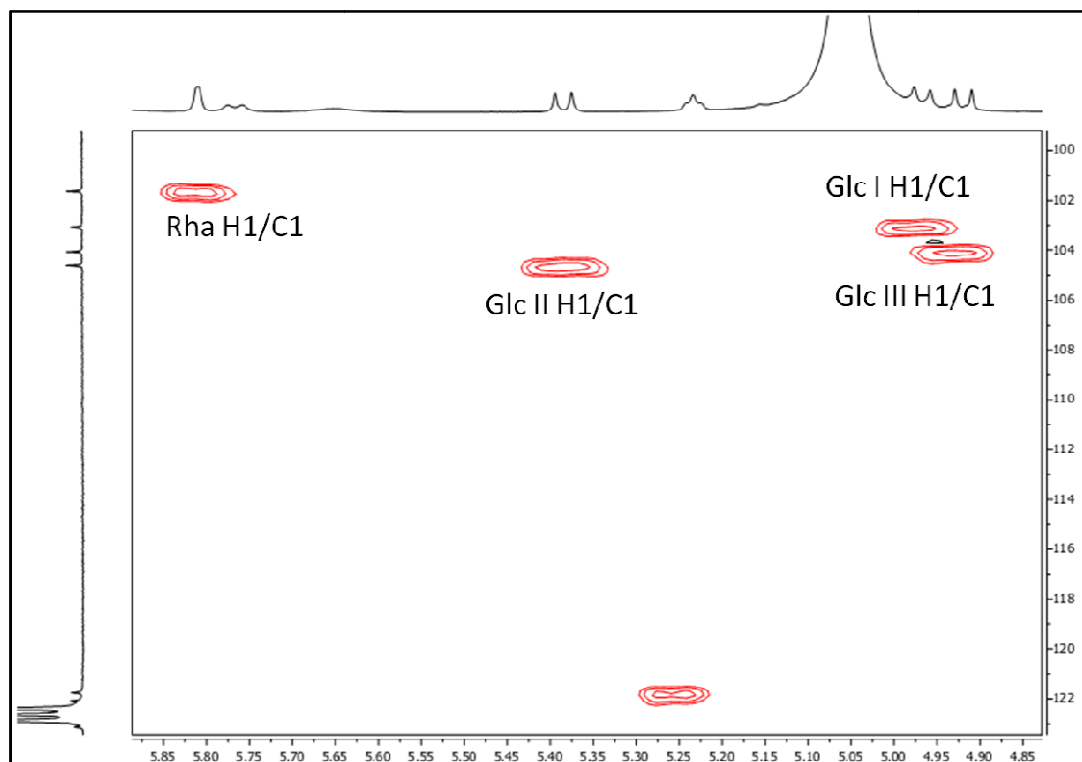


Figure 117 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS1**.

Détermination de l'enchaînement des sucres et leur fixation sur l'aglycone

La séquence de l'oligosaccharide est établie grâce aux spectres HMBC et NOESY. On observe :

- la corrélation HMBC entre le proton à δ_H 4.96 (GlcI H-1) et le carbone à δ_C 82.6 (Agly C-3), ce qui suggère que le GlcI est fixé sur la position 3 de la génine. Ceci est confirmé par la corrélation NOESY entre δ_H 4.96 (GlcI H-1) et δ_H 4.10 (Agly H-3).
- les corrélations HMBC δ_H 4.92 (GlcII H-1)/ δ_C 68.8 (GlcI C-6) et NOESY δ_H 4.07 (GlcI H-6)/ δ_H 4.92 (GlcII H-1), prouvent que le glucose II est lié au glucose I par une liaison (1→6).
- les corrélations HMBC δ_H 5.38 (GlcIII H-1)/ δ_C 82.7 (GlcI C-2) et NOESY δ_H 4.10 (GlcI H-2)/ δ_H 5.38 (GlcIII H-1), montrent que le glucose III est lié au glucose I par une liaison (1→2).
- enfin les corrélations δ_H 5.81 (Rha H-1)/ δ_C 78.5 (GlcI C-4) et NOESY δ_H 5.81 (Rha H-1)/ δ_H 4.25 (GlcI H-4), confirment que le rhamnose est lié au glucose I par une liaison (1→4).

La séquence de l'oligosaccharide en C-3 est donc la suivante : **3-O- β -D-glucoopyranosyl-(1→6)-[β -D-glucoopyranosyl-(1→2)]-[α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)]- β -D-glucoopyranosyl.**

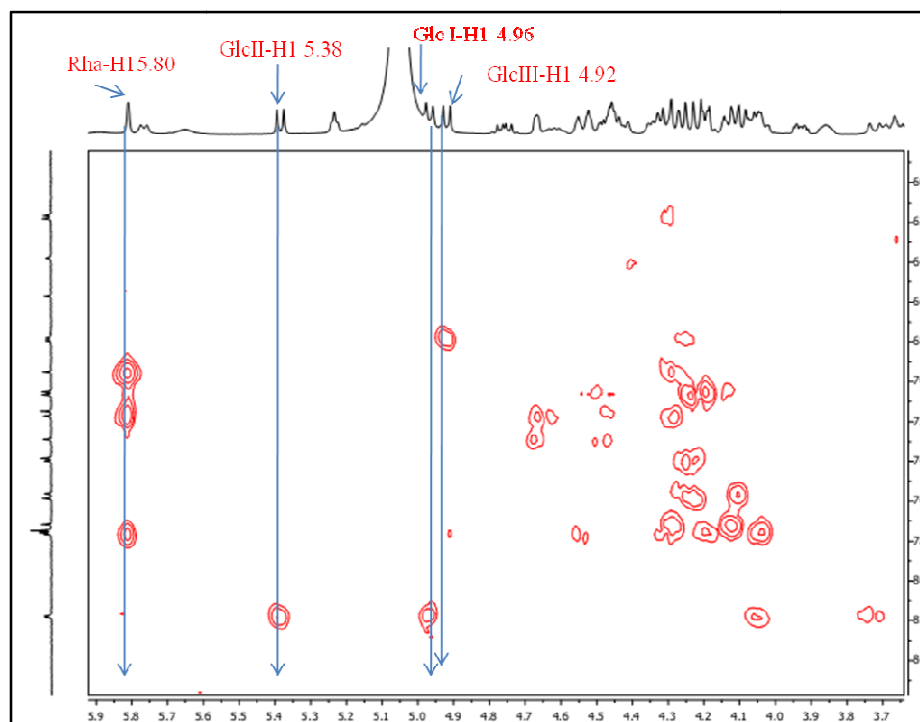


Figure 118 : Spectre HMBC du composé **BS1** montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres.

Conclusion

Au vu des résultats obtenus, la structure du composé **BS1** a été élucidé au **3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,23,28-tetrahydroxyléan-12-ene**, un nouveau composé naturel.

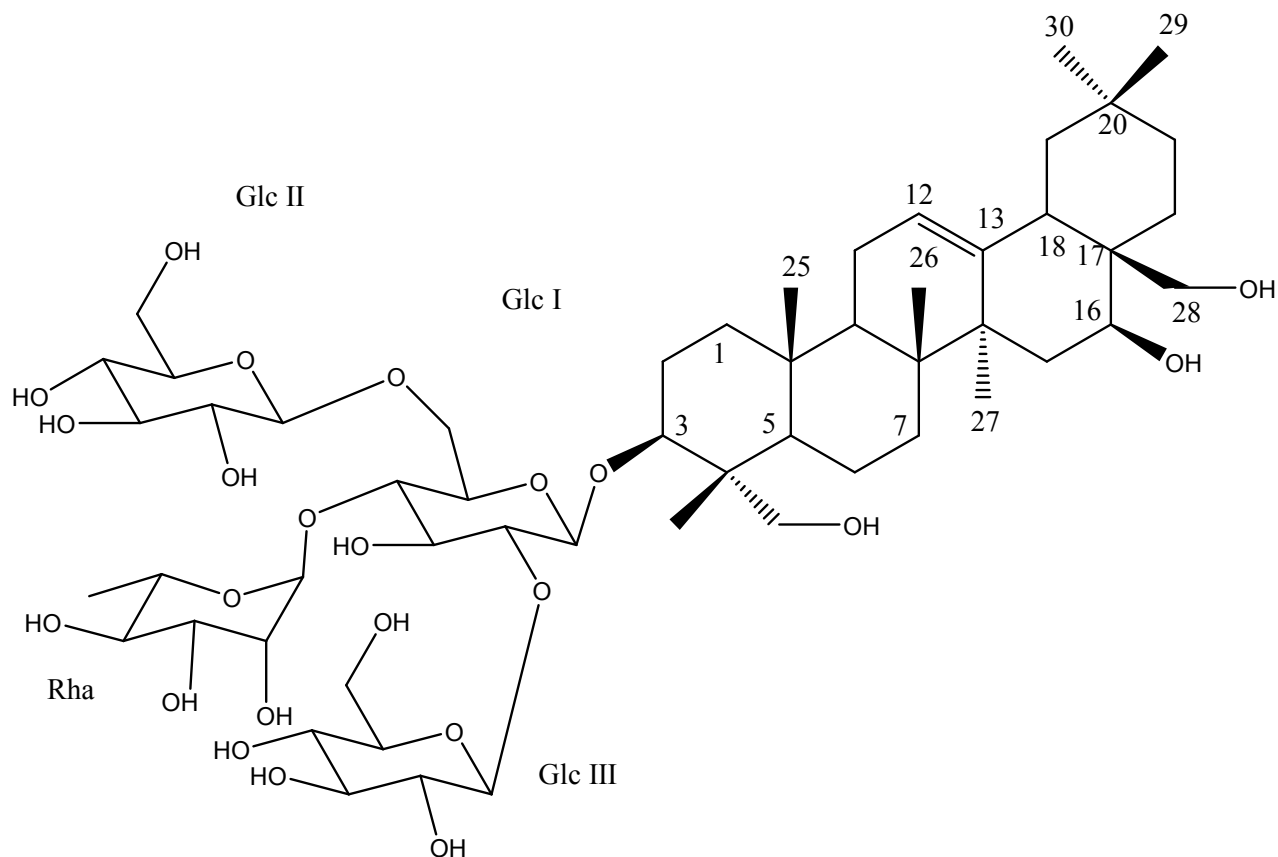


Figure 119 : Structure du nouveau composé naturel **BS1**.

V.2.2. Description du composé BS2

Spectrométrie de masse

Le composé **BS2** présente en ESI-MS en mode positif un pic de l'ion pseudo-moléculaire à 1127 $[M+Na]^+$, compatible avec la formule moléculaire de $C_{54}H_{88}O_{23}$, indiquant une masse moléculaire de 1104.

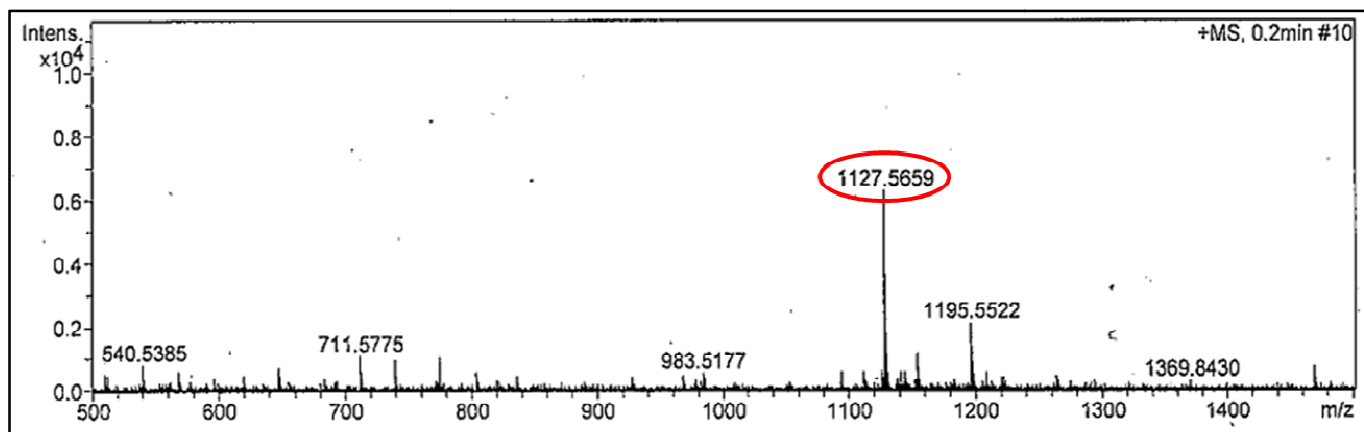


Figure 120 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **BS2**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

L'analyse du spectre RMN¹H a permis de révéler les caractéristiques suivantes :

- six fins singulets à δ_H à 1.39 (H₃-24), 0.83 (H₃-25), 0.95 (H₃-26), 1.30 (H₃-27), 0.95 (H₃-29), 1.01 (H₃-30) correspondant à six groupements méthyles, confirmant la présence d'un triterpène.
- un massif de protons résonnant entre 1.20 et 2.77 correspondent aux CH-, CH₂ – de la génine triterpénique.
- un proton oléfinique résonnant à δ_H 5.26 (br t, $J = 3.7$ Hz, H-12), correspond au proton H-12 déblindé par la double liaison.
- deux protons à δ_H 4.65 (H-16) et δ_H 4.04 (H-3), portés respectivement par des carbones hydroxylés à ces positions.

Ces caractéristiques ne montrent pas de variations significatives par rapport au composé **BS1**, nous retrouvons sur les spectres RMN1D et 2D la quasi-totalité des signaux retrouvés dans la génine du composé **BS2** mais une différence majeure est notée :

- une seule paire de protons géminaux portés par un carbone oxydé à δ_H 3.69, 4.40 (H-28a, H-28b).

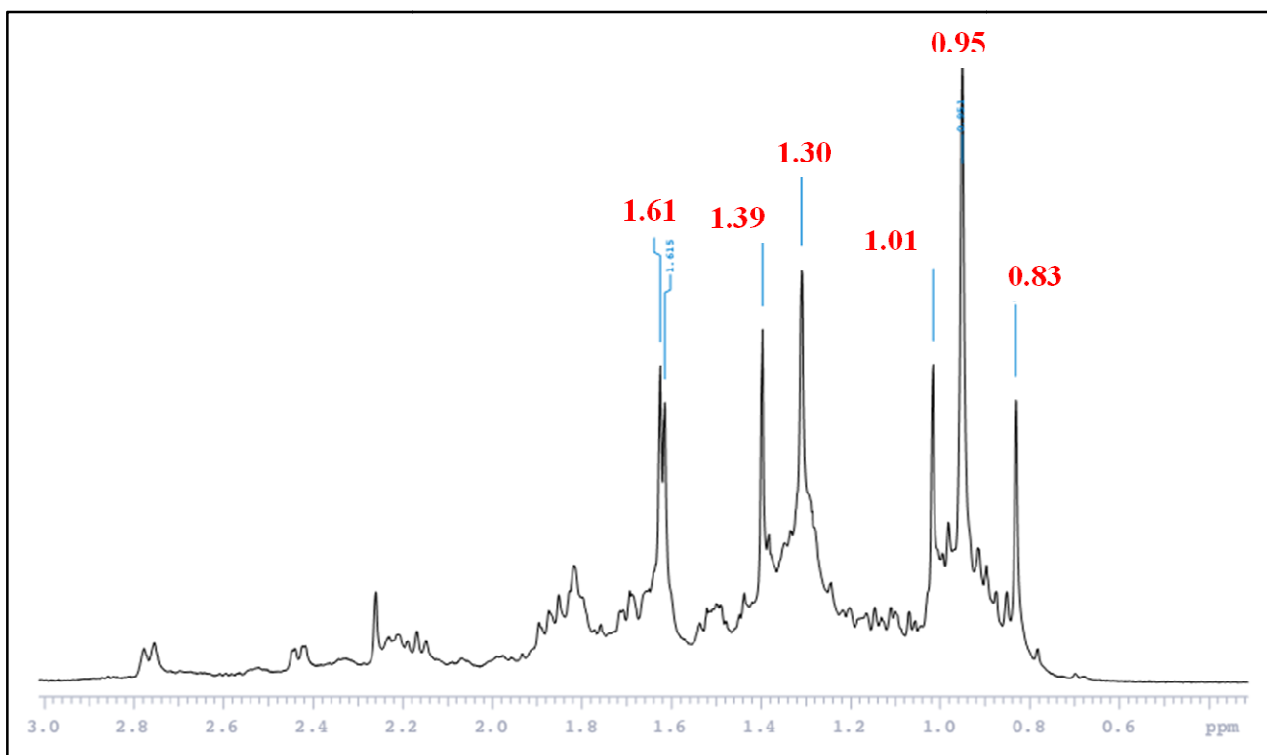


Figure 121 : Spectre RMN¹H du composé **BS2** (zone des méthyles).

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C montre :

- 54 signaux d'atomes de carbone dont 30 sont attribuables à la génine et 24 appartiennent à l'oligosaccharide.
- les carbones des méthyles 24, 25, 26, 27, 29 et 30 résonnent à δ_C 10.5, 15.5, 16.5, 26.9, 33.1, 23.8 respectivement.
- un ensemble de carbones résonnant entre δ_C 23.5 et δ_C 54.9 et attribués aux CH-, CH₂- de la génine.

- un carbone quaternaire résonnant à δ_C 144.5 (C-13) et un autre carbone à δ_C 122.1 (C-12), confirmant une double liaison entre le C-12 et le C-13.
- deux carbones hydroxylés déblindés à C-3 et C-16, résonnant à δ_C 83.2 et 66.3, respectivement.
- le carbone C-28 apparait à δ_C 68.2, déblindée du fait de la présence d'un hydroxyle.
- un signal dans le spectre de RMN¹³C à δ_C 208.9 suggérant une fonction carbonyle d'un groupe aldéhyde. Ce signal constitue la différence avec la génine du composé **BS2**.

Spectre HSQC

Le spectre HSQC permet d'attribuer les carbones protonés de la saponine et d'attribuer les déplacements chimiques des carbones et des protons qui leur sont associés (Tableau 30).

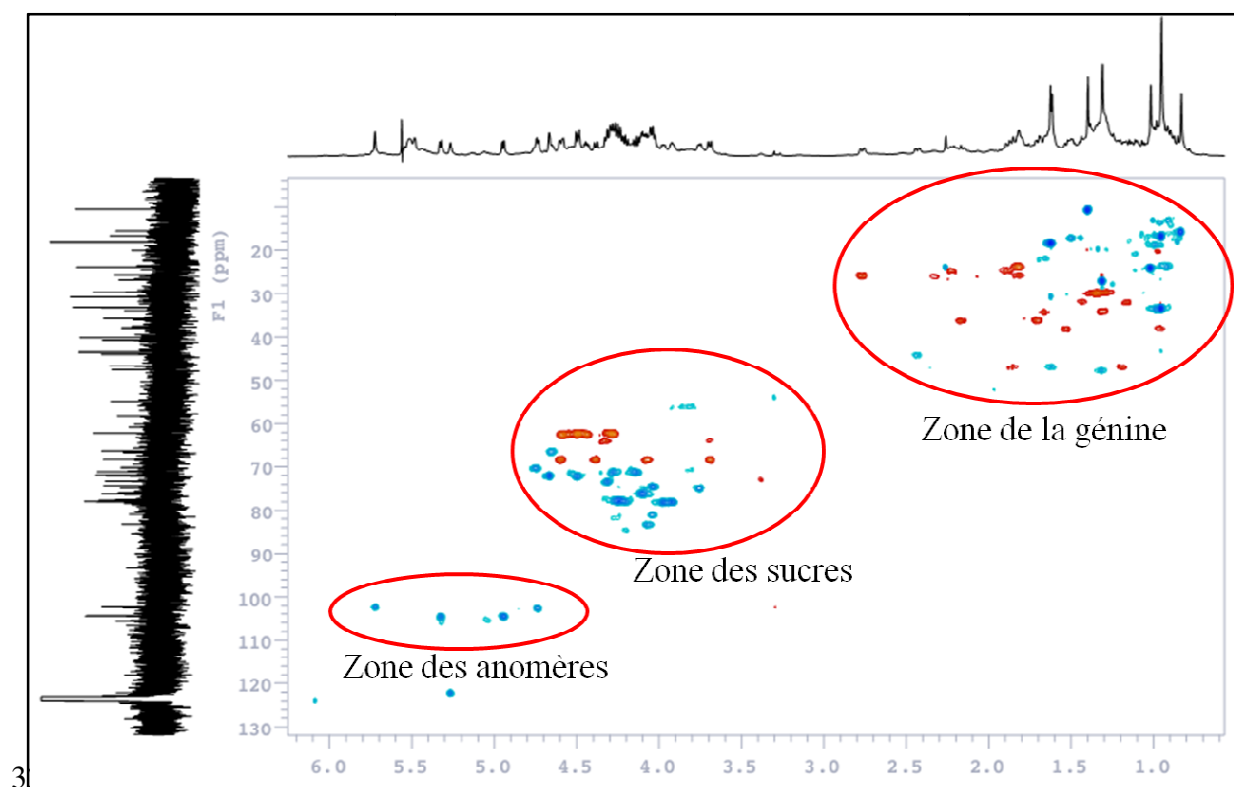


Figure 122 : Spectre HSQC du composé **BS2**.

Tableau 30 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS2** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_C	δ_H	Posit.	δ_C	δ_H
1	39.7	0.95 - 1.54 m	3-O-Glc I		
2	24.7	1.84, 2.77 m	1	102.4	4.73 d (7.6)
3	83.2	4.04	2	81.2	4.05
4	54.9	-	3	75.8	4.08
5	46.7	1.62	4	77.9	4.20
6	nd	nd	5	75.0	3.75 m
7	32.0	1.18, 1.44	6	68.2	4.08, 4.60
8	40.1	-	Glc II		
9	47.6	1.32	1	104.4	4.94 d (7.6)
10	36.0	-	2	74.4	4.04
11	23.5	1.84	3	77.9	4.26
12	122.1	5.26 t (3.7)	4	71.0	4.14 m
13	144.5	-	5	77.7	3.92 m
14	43.5	-	6	62.2	4.29, 4.48
15	35.7	1.72, 2.19	Glc III		
16	66.3	4.65	1	104.3	5.31 d (7.8)
17	40.7	-	2	75.5	4.09
18	44.0	2.41 dd (14.0, 4.6)	3	77.9	4.20
19	47.0	1.20 m, 1.86	4	71.1	4.28
20	30.8	-	5	77.7	3.97
21	33.9	1.30, 1.68	6	62.2	4.31, 4.56
22	25.7	1.90 m, 2.22 m	Rha		
23	208.9	-	1	102.2	5.72 s
24	10.5	1.39 s	2	71.9	4.78
25	15.5	0.83 s	3	72.0	4.50
26	16.5	0,95 s	4	73.3	4.31
27	26.9	1.30 s	5	70.2	4.72
28	68.2	3.69 d (10.5), 4.40 d (10.5)	6	18.1	1.61 d (5.8)
29	33.1	0.95 s			
30	23.8	1.01 s			

Spectre HMBC

L'expérience HMBC a révélé les corrélations entre protons et carbones distants de une à quatre liaisons ($^2J_{H-C}$, $^4J_{H-C}$), elle permet ainsi l'attribution de la plupart des carbones et des hydrogènes de la génine :

- la corrélation à δ_H/δ_C 1.39 (H₃-24)/54.9 (C4), 46.7 (C-5), 208.9 (C-23) et 83.2 (C-3) permet d'attribuer un groupement aldéhyde dans la position C-23, une fonction alcoolique en C-3, un carbone quaternaire en C4 et de confirmer la position du carbone en C-5.

- la corrélation à δ_H/δ_C 0.83 (H₃-25)/39.7 (C-1), 46.7 (C-5), 47.6 (C-9) et 36.0 (C-10) confirme la position du carbone quaternaire en 10 et des carbones en C-1, C-5 et C-9.

- la corrélation à δ_H/δ_C 0,95 (H₃-26)/32.0 (C-7), 40.1 (C-8), 47.6 (C-9) et 43.5 (C-14) confirme la position du carbone quaternaire en C-8 et les positions des carbones en C-7, C-9 et C-14.

- la corrélation à δ_H/δ_C 1.30 (H₃-27)/40.1 (C-8), 43.5 (C-14), 144.5 (C-13) et 35.7 (C-15) confirme la position de deux carbones quaternaires en C-13 et C-14, de la double liaison en C12 et C-13, et des carbones en C-8, et C-15.

- les protons des méthyles en CH₃-29 à δ_H 0.95 et CH₃-30 à δ_H 1.01 sont confirmés par leurs corrélations avec δ_C 47.0 (C-19), 30.8 (C-20) et 33.9 (C-21). Leur distinction, se fait grâce à la différence des déplacements chimiques, des carbones C-29 à δ_C 33.1ppm et C-30 à δ_C 23.8 ppm à cause de la position α -axiale du C-29 (valeur déblindée) et de la position β -équatoriale du C-30 (Valeur blindée).

Une corrélation dans le spectre HMBC à δ_H/δ_C 1.44 (H₃-24)/46.7 (C-5), 54.9 (C4) et 208.9 (C-23) a permis que la localisation de la fonction carbonyle à C-23.

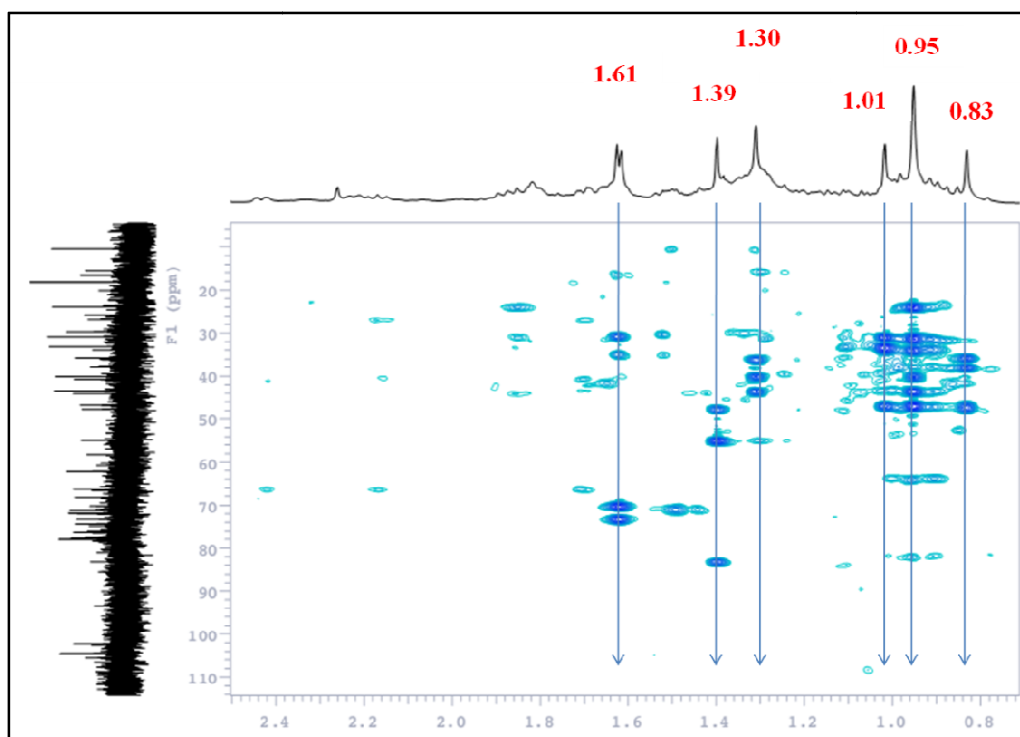


Figure 123 : Spectre HMBC du composé **BS2** montrant les corrélations des méthyles.

Spectre NOESY

L'orientation β -axiale de OH-16 est confirmée par la corrélation HMBC entre δ_H 4.65 (H-16) avec δ_H 1.30 (H₃-27). La stéréochimie α -équatoriale de 3-H est confirmée par la corrélation δ_H 4.04 (H-3) avec δ_H 1.62 (H-5).

Structure de la génine BS2

La structure de la génine du composé **BS2** a été ainsi identifiée comme étant **3 β ,16 β ,28, trihydroxy-23-oxooléan-12-ene**, une nouvelle génine.

Partie osidique

L'analyse du spectre HSQC de **BS2** permet de distinguer quatre carbones anomériques à δ_C 102.4, 104.4, 104.3 et 102.2 corrélant avec quatre protons anomériques à δ_C 4.73 (1H, *d*, *J* = 7.6), 4.94 (1H, *d*, *J* = 7.6), 5.31 (1H, *d*, *J* = 7.8), et 5.72 (1H, *s*), ce qui prouve la présence de quatre sucres. L'analyse approfondie des spectres RMN-1D et -2D a permis d'identifier la même séquence tétrasaccharidique en C-3 que celle du le précédent composé **BS1**.

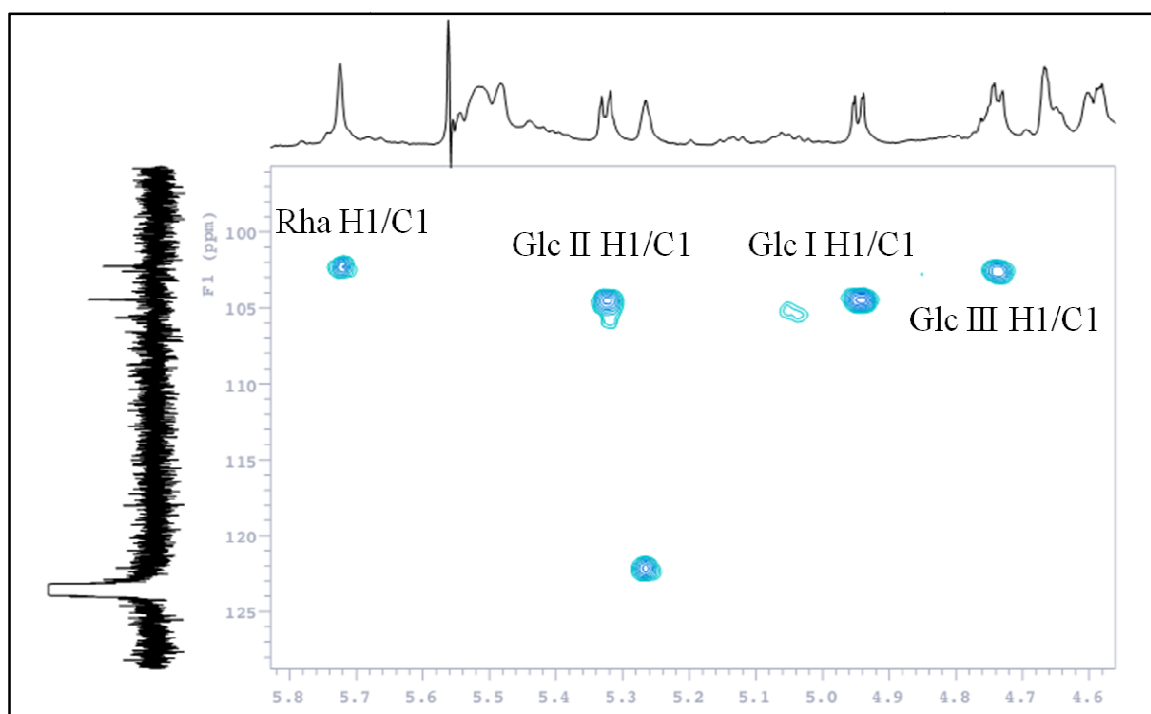


Figure 124 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS2**.

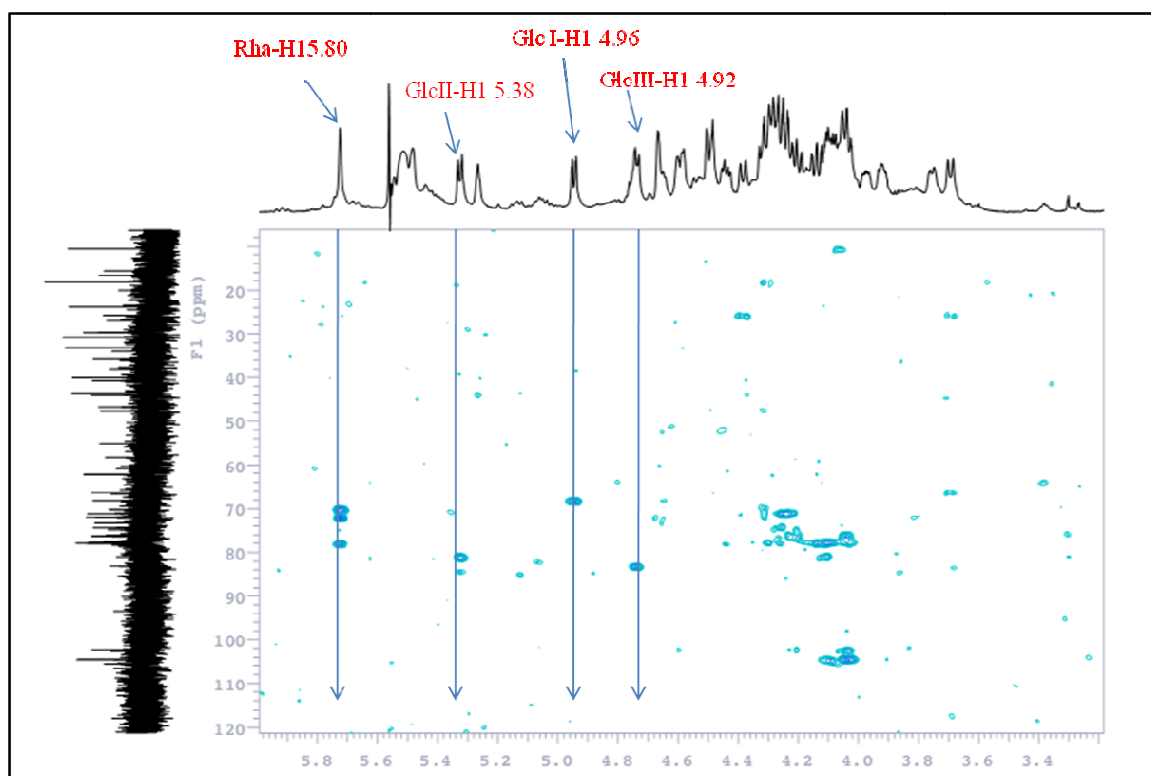


Figure 125 : Spectre HMBC du composé **BS2** montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres.

Conclusion

Sur la base de tout les résultats obtenus précédemment, le composé **BS2** a été identifié comme étant **3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-23-oxooléan-12-ene**, nouvelle saponine naturelle.

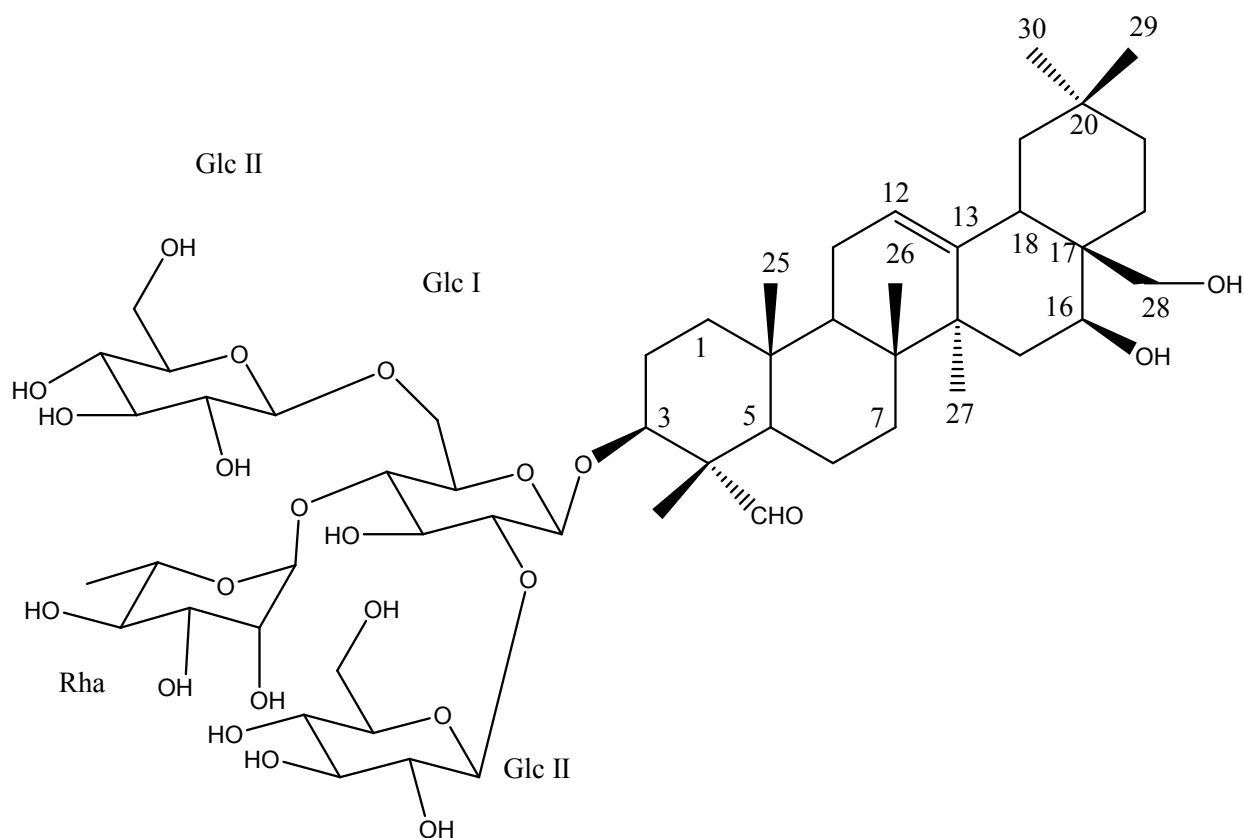


Figure 126 : Structure du nouveau composé naturel **BS2**.

V.2.3. Description du composé BS3

Spectrométrie de masse

Sur le spectre de masse ESI-MS en mode positif du composé **BS3**, un pic de l'ion pseudo-moléculaire est observé à m/z 1143 $[M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 1120 qui correspond à une formule brute de $C_{54}H_{88}O_{24}$.

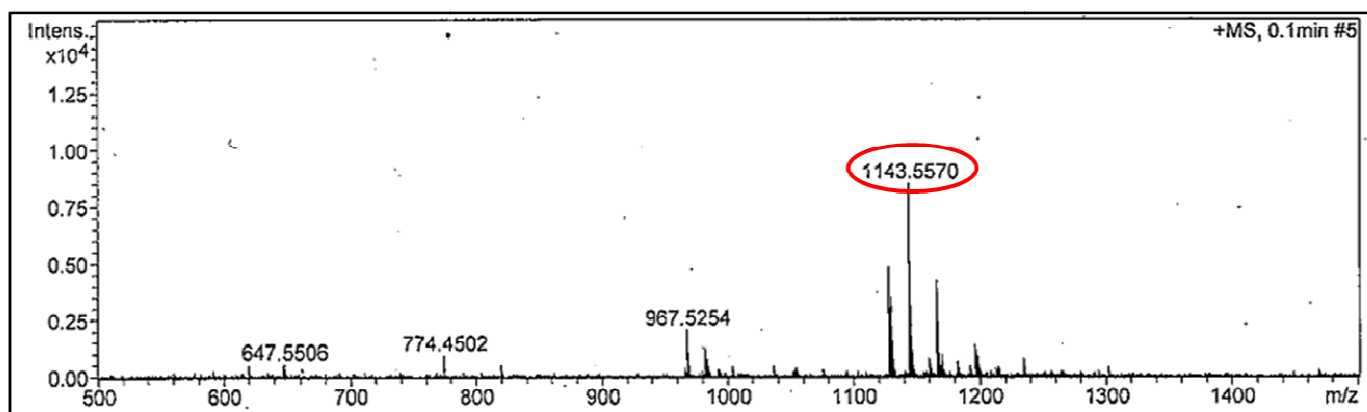


Figure 127 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **BS3**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

Le spectre de l'expérience RMN¹H révèle clairement la présence de :

- six signaux sous forme de fins singulets, correspondant aux groupements méthyles d'un squelette triterpénique pentacyclique et résonnant à δ_H à 1.58 (H₃-24), 0.83 (H₃-25), 0.95 (H₃-26), 1.27 (H₃-27), 0.91 (H₃-29), 0.99 (H₃-30).
- un massif de protons résonnant entre 1.15 et 2.76 correspondant aux CH- et CH₂- des cinq cycles de la génine triterpénique.
- un triplet correspondant un proton oléfinique, à δ_H 5.24 (br t, $J = 3.7$ Hz, H-12), caractéristique du proton H-12, déblindé, de la double liaison du squelette triterpénique.
- deux signaux résonant à δ_H 4.61 (H-16) et δ_H 4.75 (H-3) de deux protons portés par des carbones liés à des hydroxyles.

Les déplacements observés ne montrent pas de variations significatives, comparativement au composé **BS1** et **BS2**. Le composé **BS3** présente seulement une seule paire de protons

géminaux portés par un carbone oxydé à δ_H 3.67, 4.40 (H-28a, H-28b) comme dans le cas du composé **BS2**.

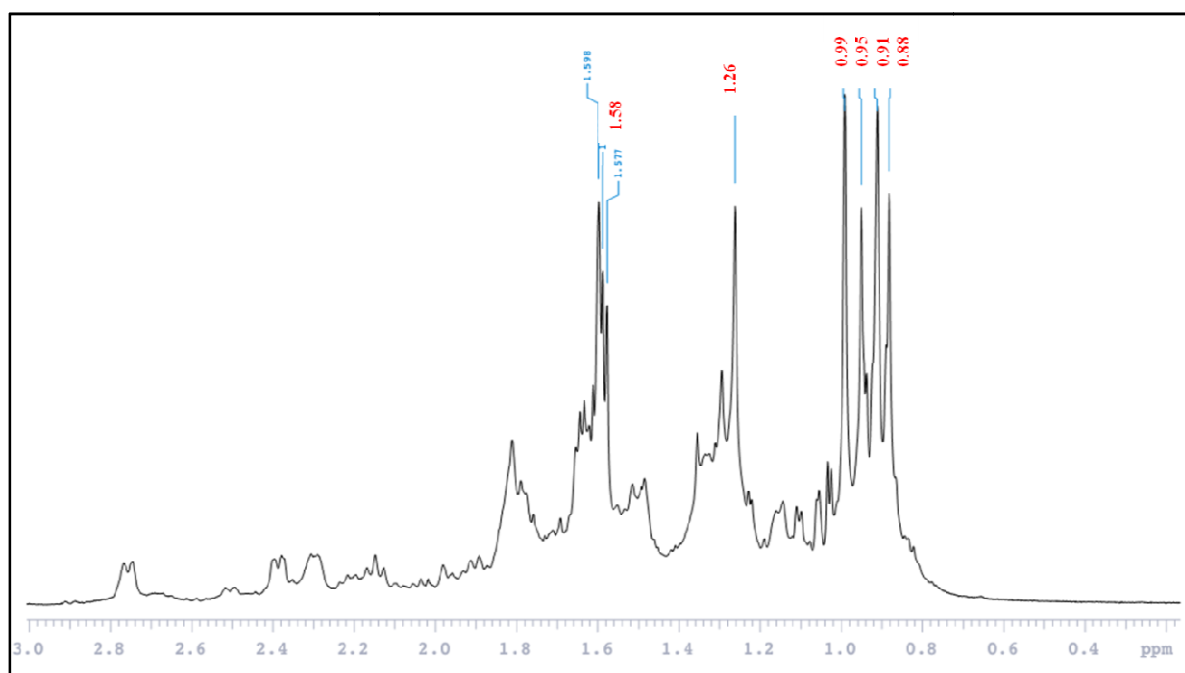


Figure 128 : Spectre RMN¹H du composé **BS3** (zone des méthyles).

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C indique la présence de :

- 54 carbones dont 30 sont attribués à la génine et 24 aux sucres.
- 6 signaux méthyliques à δ_C à 13.1 (CH₃-24), 15.8 (CH₃-25), 16.5 (CH₃-26), 26.9 (CH₃-27), 33.1 (CH₃-29) et 23.8 (CH₃-30).
- des signaux apparaissant entre δ_C 23.5 et 53.4 correspondant aux déplacements des CH-, CH₂- de la génine titerpénique.
- deux signaux caractéristiques d'une double liaison à δ_C 122.2 et 145.1 correspondant aux carbones éthyléniques C-12 et C-13.
- les carbones hydroxylés à C-3 et C-16 résonnent à δ_C 85.5 et 66.4 respectivement.
- un signal apparaissant à δ_C 68.7 correspondant à un carbone oxydé en C-28.
- le signal du carbonyle C-23 apparaissant à δ_C 183.1, déplacé vers les champs forts, indique la présence d'un groupement carboxylique d'une fonction acide à cette position.

Spectre HSQC

À partir du spectre HSQC, l'analyse des corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$ observées permet d'attribuer les déplacements chimiques des protons et des carbones les portant. Les valeurs des δ_C et δ_H sont répertoriées dans le tableau 31.

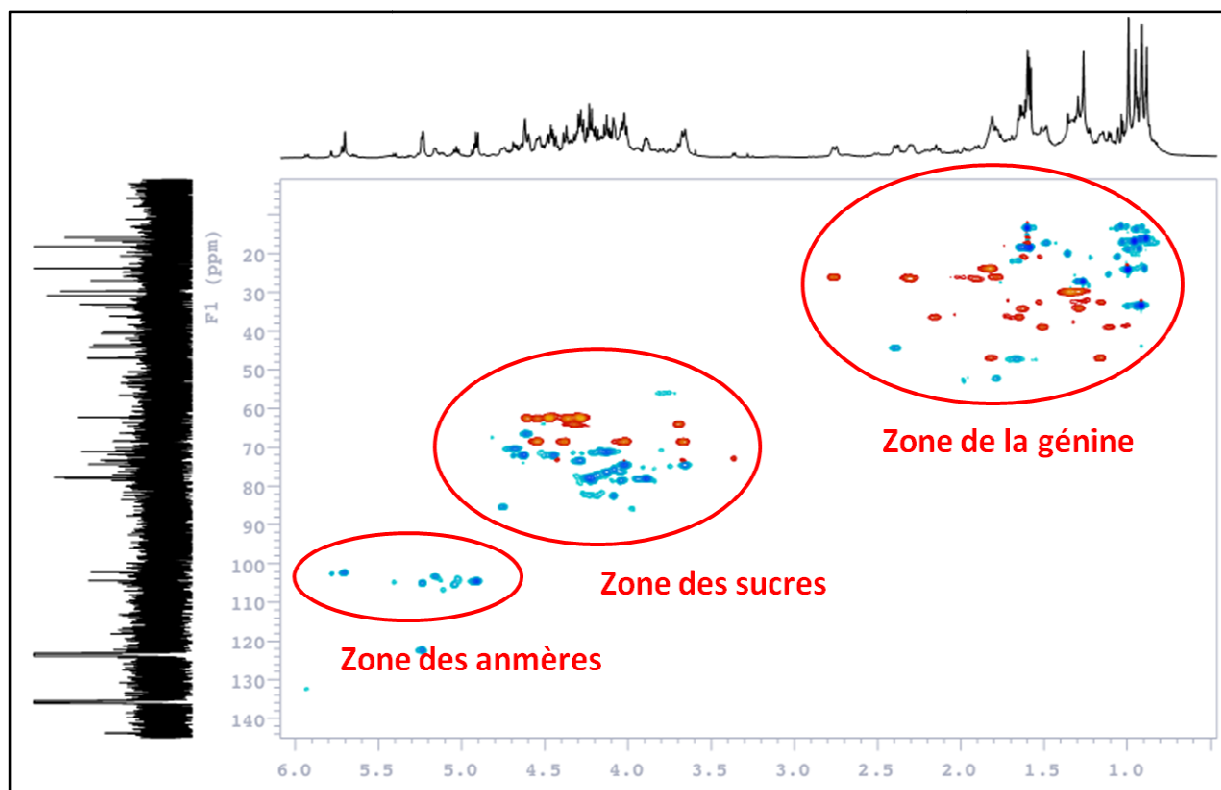


Figure 129 : Spectre HSQC du composé **BS3**.

Tableau 31 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS3** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_C	δ_H	Posit.	δ_C	δ_H
1	39.0	1.15 - 1.51 m	3-O-Glc I		
2	26.0	1.78, 2.76 m	1	103.2	5.12 d (7.6)
3	85.5	4.75	2	82.2	4.08
4	53.4	-	3	75.9	4.04
5	51.7	1.78	4	78.0	4.20
6	19.6	1.36, 1.62	5	74.9	3.66 m
7	32.7	1.18, 1.53	6	68.0	4.03, 4.54
8	40.1	-	Glc II		
9	46.7	1.69	1	104.4	4.92 d (7.6)
10	36.2	-	2	74.4	4.02
11	23.5	1.83	3	77.9	4.24
12	122.2	5.24 t (3.7)	4	71.0	4.14
13	145.1	-	5	78.7	3.88 m
14	44.1	-	6	62.1	4.29, 4.47
15	36.1	1.66, 2.14	Glc III		
16	66.4	4.61	1	104.5	5.24 (7.6)
17	40.7	-	2	75.2	4.08
18	44.1	2.40 dd (14.0, 4.6)	3	77.5	4.20
19	46.9	1.17 m, 1.82	4	71.1	4.17
20	30.8	-	5	78.0	3.94 m
21	33.9	1.30, 1.63	6	62.2	4.36, 4.54
22	26.0	1.92 m, 2.31 m	Rha		
23	183.1	-	1	102.2	5.70 s
24	13.1	1.58 s	2	71.9	4.62 s
25	15.8	0.83 s	3	72.0	4.44
26	16.5	0,95 s	4	73.3	4.29
27	26.9	1.27 s	5	70.2	4.69 m
28	68.7	3.67 d (10.5), 4.40 d (10.5)	6	18.1	1.59 d (5.8)
29	33.1	0.91 s			
30	23.8	0.99 s			

Spectre HMBC

L'analyse de l'expérience HMBC, permet de visualiser les couplages entre protons et carbones distants de deux ou trois liaisons ($^2J_{H-C}$ et $^3J_{H-C}$), et permet ainsi d'attribuer les méthyles et les autres carbones de la génine.

- les protons H₃-24 résonnant à δ_H 1.58 sont repérés sur le spectre HMBC par sa corrélation avec les carbones C-3, C-4 et C-5 et C-23 résonnant à δ_C 85.5, 53.4, 51.7 et 183.1 respectivement, ce qui confirme la position de la fonction carboxylique acide en C-23.

- les protons de CH₃-25 apparaissant à δ_H 0.83 corrélient avec δ_C 39.0, 51.7, 46.7 et 36.2 correspondant aux carbones C-1, C-5, C-9 et au carbone quaternaire C-10.

- les protons de CH₃-26 à δ_H 0.95 corrélient avec les carbones à δ_C 32.7 (C-7), 40.1 (C-8), 46.7 (C-9) et 44.1 (C-14).

- les protons de CH₃-27 à δ_H 1.27 corrélient avec les carbones à δ_C 40.1 (C-8), 145.1 (C-13), 44.1 (C-14) et 36.1 (C-15).

- les protons de CH₃-29 et CH₃-30 résonnant à δ_H 0.91 et 0.99, respectivement, corrélient avec les carbones C-19, C-20 et C-21 résonnant à δ_C 46.9, 30.8 et 33.9, respectivement. Le CH₃-29 en position α -équatoriale, est plus déblindé que le CH₃-30 β -axial.

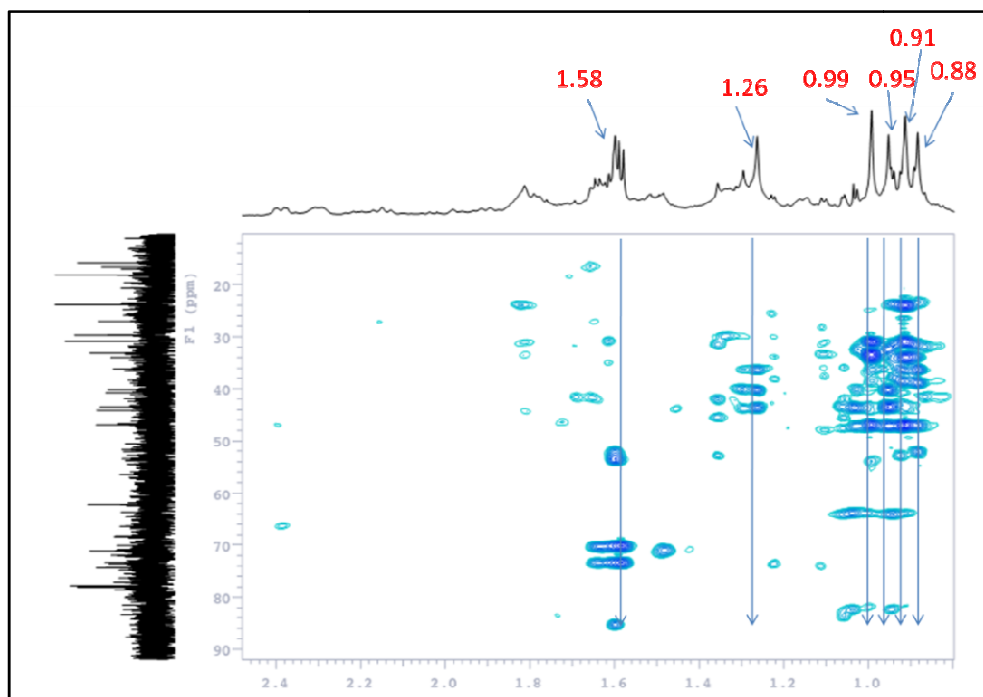


Figure 130 : Spectre HMBC du composé **BS3** montrant les corrélations des méthyles.

Spectre NOESY

La corrélation de δ_H 4.61 (H-16) avec δ_H 1.27 (H-27) implique une position α -équatoriale de H-16, donc une β -orientation de OH-16. La corrélation δ_H 4.75 (H-3) avec δ_H 1.78 (H-5) permet de placer le groupement hydroxyle OH-3 en position β -axiale.

Structure de la génine du composé BS3

Au vue des résultats obtenus, la génine du composé **BS3** a été élucidée à l'**acide 3 β ,16 β ,28-trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque**, une nouvelle génine.

Partie osidique

L'analyse de la zone des sucres dans les différents spectres RMN 1D et 2D montre une très forte similarité entre les composés **BS3**, **BS2** et **BS1**. Ceci indique la présence de la même chaîne tétrasaccharidique en C-3.

Conclusion

D'après ces résultats, le composé **BS3** a été élucidé à l'**acide 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque**, nouvelle saponine triterpénique naturelle.

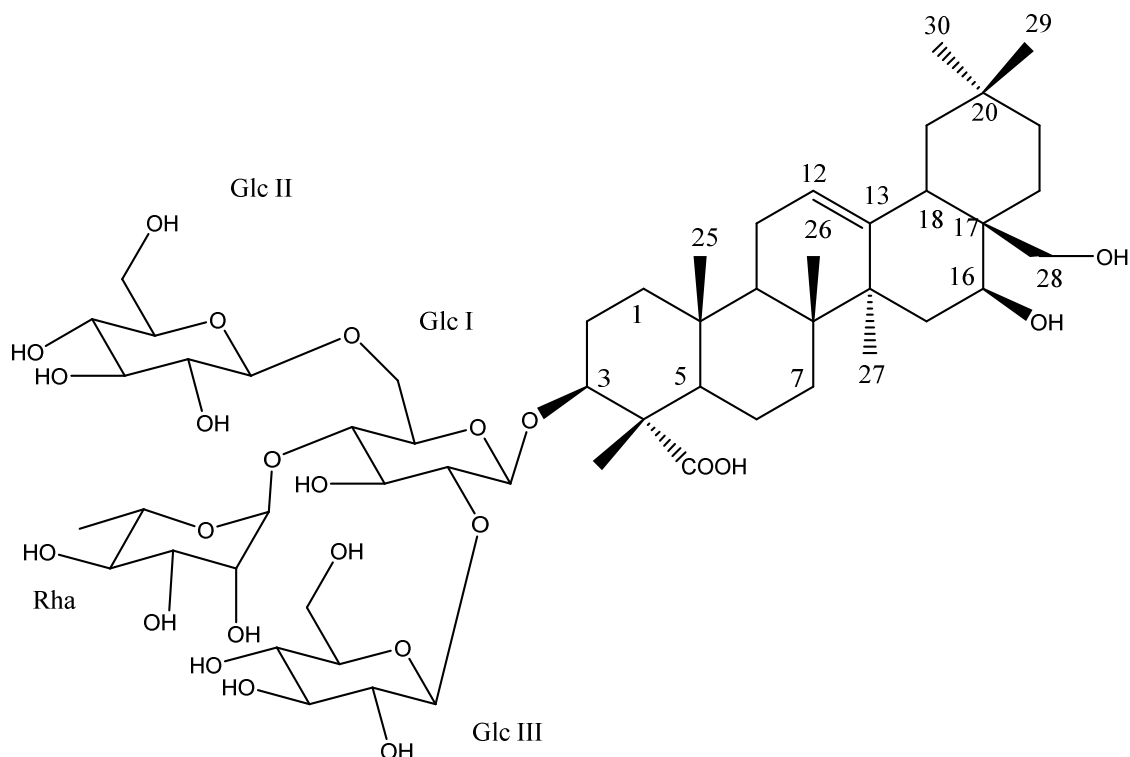


Figure 131 : Structure du nouveau composé naturel **BS3**.

V.2.4. Description du composé BS4

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse obtenu en ESI-MS en mode positif du composé **1** montre un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 981 $[M+Na]^+$ (figure 132), soit une masse moléculaire de 958 uma, correspondant à une formule brute de $C_{48}H_{78}O_{19}$.

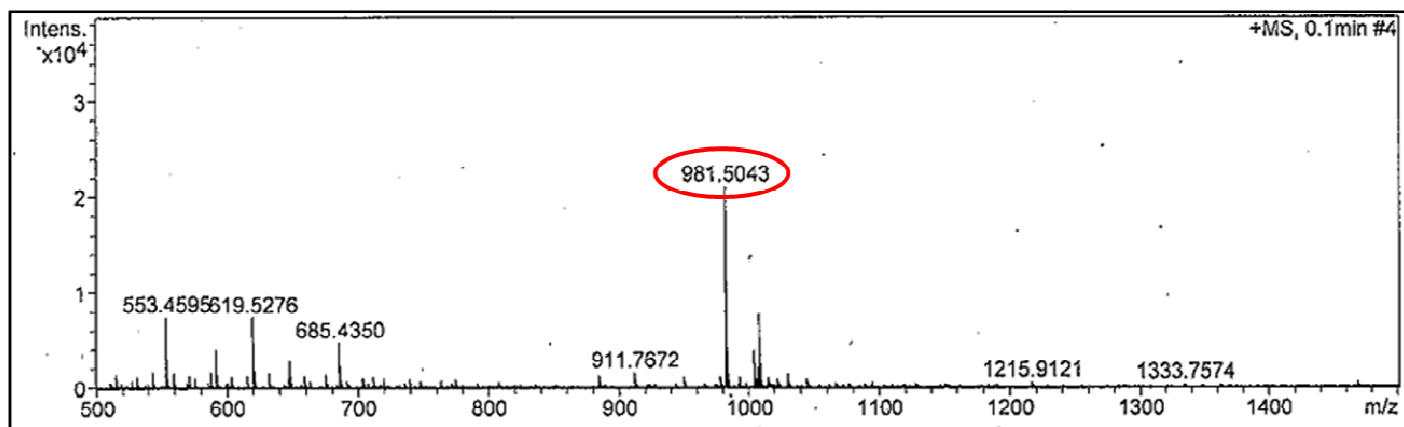


Figure 132 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **BS4**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

Sur le spectre RMN¹H, on note la présence de :

- signaux de six singulets résonnant à δ_H 1.60 (H₃-24), 0.89 (H₃-25), 0.96 (H₃-26), 1.30 (CH₃-27), 0.90 (H₃-29) et de 0.99 (H₃-30) correspondant aux méthyles de la génine triterpénique.
- un ensemble de protons résonnant entre δ_H 1.18 et 2.76, correspondant aux CH- et CH₂- de la molécule.
- un proton oléfinique résonnant sous forme d'un triplet à δ_H 5.24 (br t, $J = 3.7$ Hz, H-12). Il correspond au proton déblindé de la double liaison de la génine.
- des protons portés par des carbones hydroxylés à δ_H 4.60 (dd, $J = 11.7, 6.0$ Hz, H-16) et δ_H 4.67 (H-3).
- une seule paire de protons géminaux portés par un carbone oxydé à δ_H 3.67, 4.38 (H-28a, H-28b).

Le Spectre RMN¹H du composé **BS4** ne présente pas de variations significatives avec les spectres des composés élucidés précédemment.

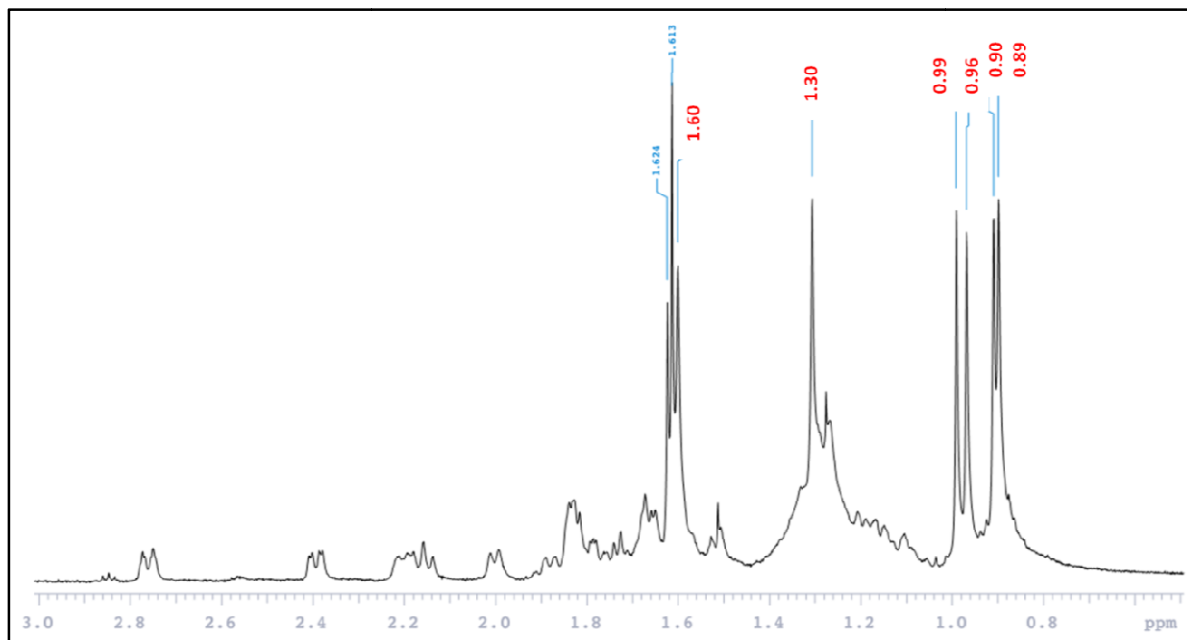


Figure 133 : Spectre RMN¹H du composé **BS4** (zone des méthyles).

Spectre RMN¹³C

L'analyse du spectre de l'expérience RMN¹³C permet de repérer ce qui suit :

- 48 signaux dont 30 sont ceux des carbones de la génine et 18 appartiennent à la partie glycosidique.
- six groupement méthyles à δ_C 13.0 (CH₃-24), 15.9 (CH₃-25), 16.6 (CH₃-26), 27.0 (CH₃-27), 33.1 (CH₃-29), et 23.8 (CH₃-30).
- des signaux apparaissant entre δ_C 23.8 et 53.7 correspondant aux CH-, et CH₂- de la génine.
- deux signaux apparaissant à δ_C 122.4 et 143.7 correspondant aux carbones C-12 et C-13, caractéristiques d'une double liaison.
- deux signaux apparaissant à δ_C 86.0 et 66.3 correspondant aux fonctions hydroxyles au niveau du C-3 et C-16 respectivement.
- le carbone C-28 résonnant à δ_C 68.2 à cause de l'effet déblindant du carbone oxydé.

Spectre HSQC

L'analyse du spectre HSQC permet d'attribuer aux carbones et aux protons les valeurs des déplacements chimiques exacts à partir des corrélations hétéronucléaires $^1J_{H-C}$. Les valeurs de ces déplacements chimiques sont reportés dans le tableau 32.

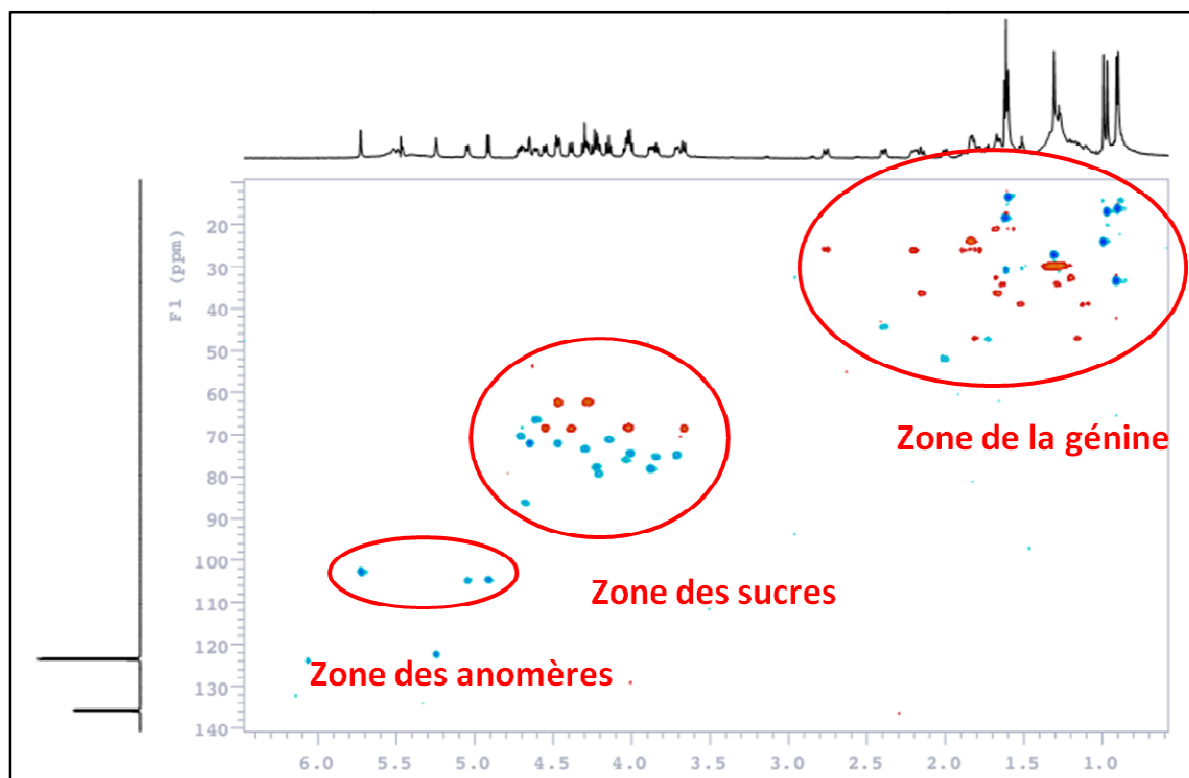


Figure 134 : Spectre HSQC du composé BS4.

Tableau 32 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS4** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

	δ_C	δ_H		δ_C	δ_H
1	38.9	1.10, 1.52 m	3-O-Glc I		
2	26.0	1.78, 2.76 m	1	104.9	5.05 d (7.6)
3	86.0	4.67	2	75.0	3.84 t(9.0)
4	53.7	-	3	76.0	4.03
5	51.8	2.00 d (11.1)	4	79.2	4.20
6	21.6	1.58, 1.68	5	74.7	3.71 m
7	32.5	1.18, 1.68	6	68.3	4.02 , 4.54 dd (11.1, 1.1)
8	41.5	-	Glc II		
9	47.0	1.72	1	104.5	4.90 d (7.6)
10	36.5	-	2	74.5	4.00
11	23.8	1.95	3	77.7	4.20
12	122.4	5.24 t (3.7)	4	71.1	4.14 t (8.7)
13	143.7	-	5	78.0	3.88
14	44.1	-	6	62.2	4.29, 4.46
15	36.2	1.66, 2.15	Rha		
16	66.3	4.60 dd (11.7, 6,0)	1	102.5	5.72 s
17	40.7	-	2	72.0	4.65
18	44.1	2.38 dd (13.4, 4.6)	3	72.0	4.46
19	46.8	1.18 m, 1.82	4	73.3	4.30
20	31.0	-	5	70.2	4.70
21	34.0	1.28, 1.64	6	18.1	1.62 d (6.4)
22	26.1	1.85 m, 2.20 m			
23	183.1	-			
24	13.0	1.60 s			
25	15.9	0.89 s			
26	16.6	0.96 s			
27	27.0	1.30 s			
28	68.2	3.67 d (10.5), 4.38 d (10.5)			
29	33.1	0.90 s			
30	23.8	0.99 s			

Spectre HMBC

L'analyse de l'expérience HMBC, permet de visualiser les couplages entre carbones et protons distants de deux ou trois liaisons (${}^2J_{H-C}$ et ${}^3J_{H-C}$), et permet ainsi de les attribuer au niveau de la génine.

- les protons H₃-24 repérés à δ_H 1.60 corrént avec les carbones C-3 (86.0), C-4 (53.7), C-5 (51.8) et C-23 (183.1). La fonction carboxylique acide est ainsi positionnée au niveau du C-23.

- les protons H₃-25 sont repérés par la corrélation δ_H/δ_C 0.89 (H₃-25)/38.9 (C-1), 51.8 (C-5), 47.0 (C-9) et 36.5 (C-10)

- les protons H₃-26 corrént avec les carbones C-7 (32.5), C-8 (41.5), C-9 (47.0) et C-14 (44.1).

- les protons H₃-27 à δ_H 1.30 corrént avec les carbones à δ_C 41.5 (C-8), 143.7 (C-13), 44.1 (C-14) et 36.2 (C-15).

- les protons de CH₃-29 à δ_H 0.90 et de CH₃-30 à 0.99 corrént avec les carbones à δ_C 46.8 (C-19), 31.0 (C-20) et 34.0 (C-21). Le CH₃-29 en position α -équatoriale, est plus déblindé que le CH₃-30 β -axial.

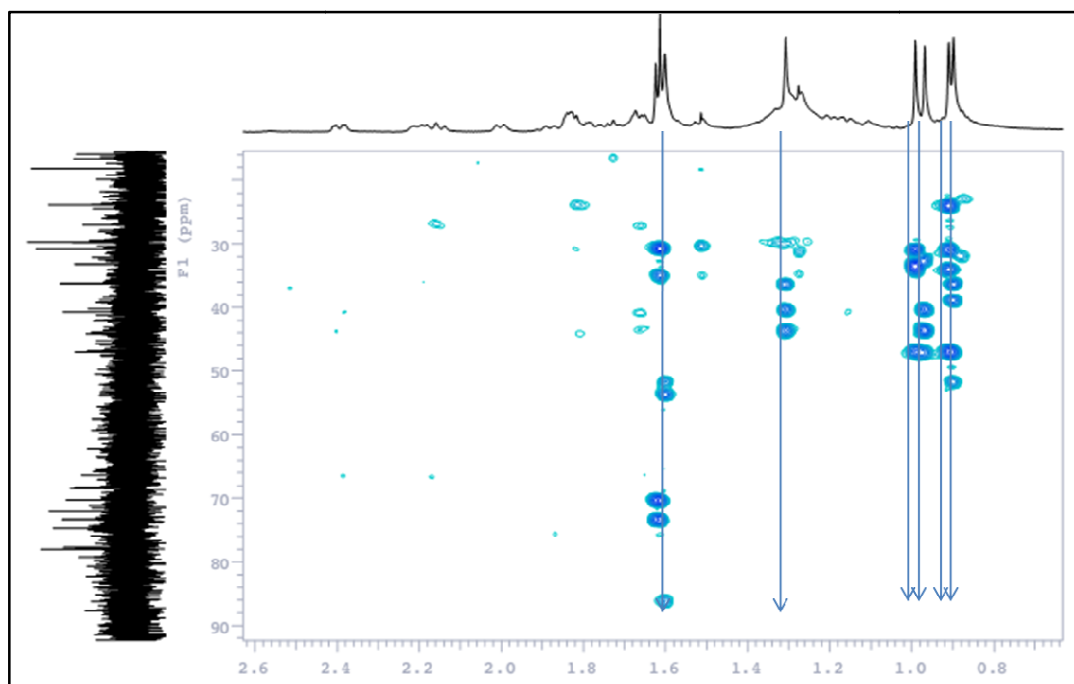


Figure 135 : Spectre HMBC du composé **BS4** montrant les corrélations des méthyles.

Spectre NOESY

Le spectre NOESY révèle la stéréochimie de l'aglycone par l'observation des corrélations à δ_H/δ_H 4.60 (H-16)/1.30 (H₃-27) et 4.67 (H-3)/2.00 (H-5), indiquant ainsi l'orientation en α de H-3 et l'orientation en β de OH-16.

Structure de la génine du composé BS4

En conséquences aux données analysées précédemment, la génine du composé **BS4** a été élucidée à l'acide **3 β ,16 β ,28-trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque**, une nouvelle génine.

Partie osidique

Détermination de la nature des sucres

L'analyse du spectre HSQC montre trois protons anomériques à δ_H 5.05 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 7.6$ Hz) et 5.72 (1H, s) corrélant avec trois carbones à δ_C 104.9, 104.5 et 102.5 respectivement, indiquant la présence de trois sucres. L'interprétation des spectres COSY, TOCSY, NOESY et HSQC permet l'identification de :

- Deux β -D-glucoopyranosyles (Glu I, Glu II).
- Un α -L-rhamnopyranosyl (Rha).

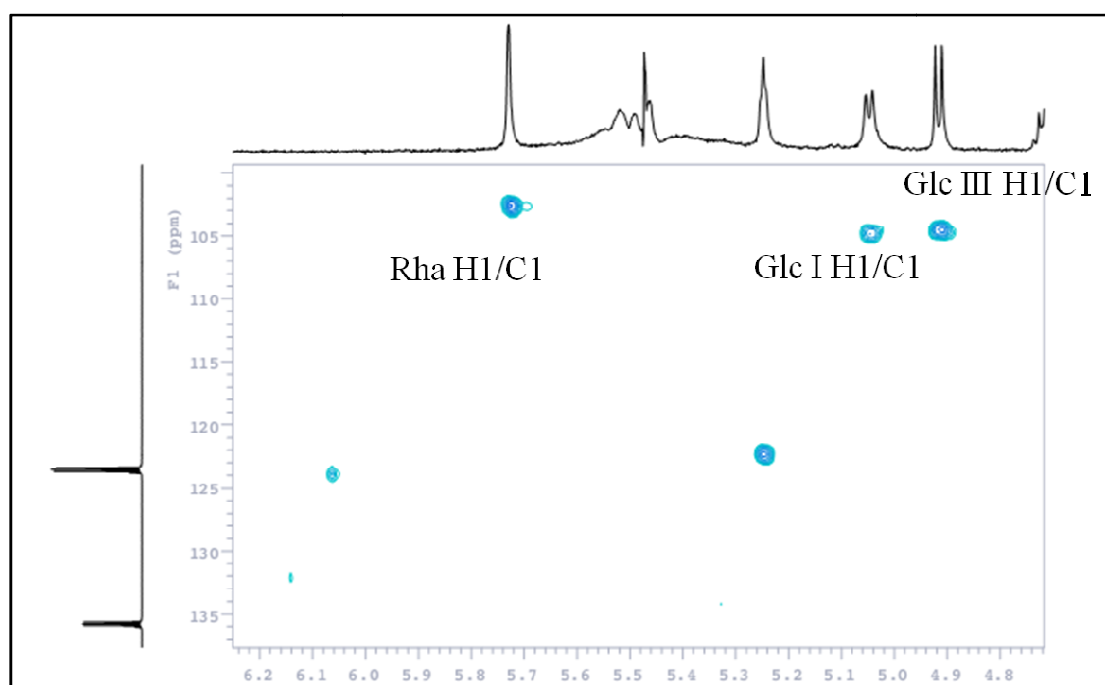


Figure 136 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS4**.

Détermination de l'enchaînement des sucres et leur fixation sur l'aglycone

L'enchaînement des sucres est déterminé par les corrélations HMBC à δ_H/δ_C 5.05 (GlcI H-1)/86.0 (Agly C-3), 4.90 (GlcII H-1)/68.3 (GlcI C-6) et 5.72 (Rha H-1)/79.2 (GlcI C-4), suggérant la séquence β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl. Cette séquence est confirmée par la corrélation ROESY à δ_H/δ_H 5.05 (GlcI H-1)/ 4.67 (Agly H-3), 4.90 (GlcII H-1)/4.02 (GlcI H-6), et 5.72 (Rha H-1)/4.20 (GlcI H-4).

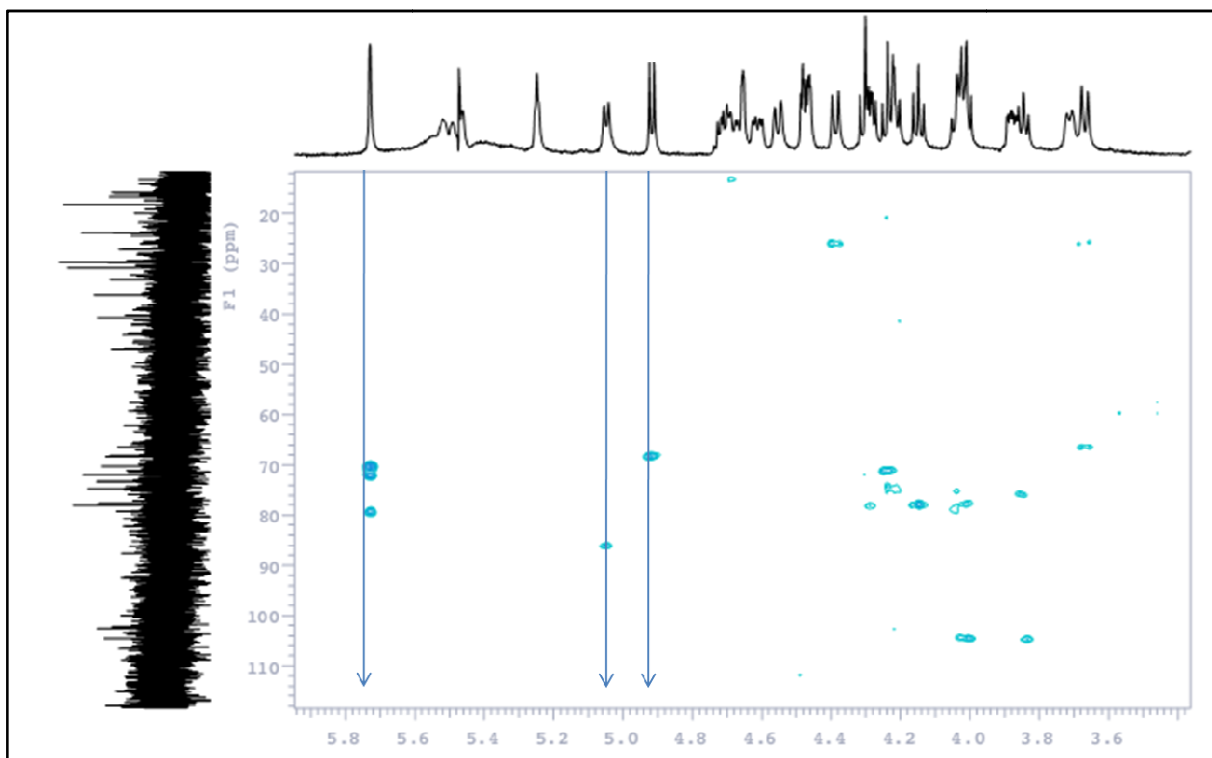


Figure 137 : Spectre HMBC du composé **BS4** montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres.

Conclusion

La structure de **BS4** a été donc établie à l'acide **3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,28-trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque**, nouvelle saponine naturelle.

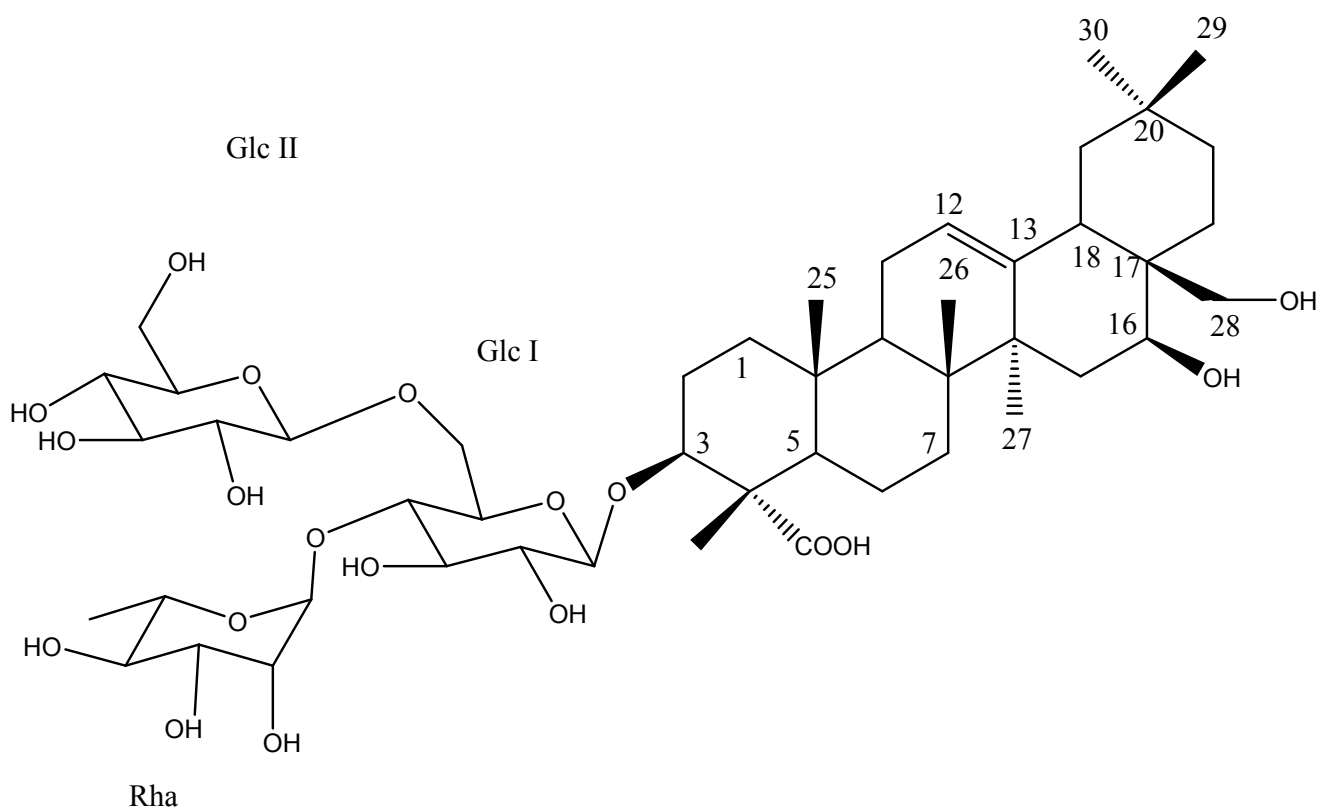


Figure 138 : Structure du nouveau composé naturel **BS4**.

V.2.5. Description du composé BS5

Spectrométrie de masse

Sur le spectre de masse ESI-MS en mode positif du composé **BS5**, nous observons un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 967 $[M + Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 944, qui correspond à une masse brute de $C_{48}H_{80}O_{18}$.

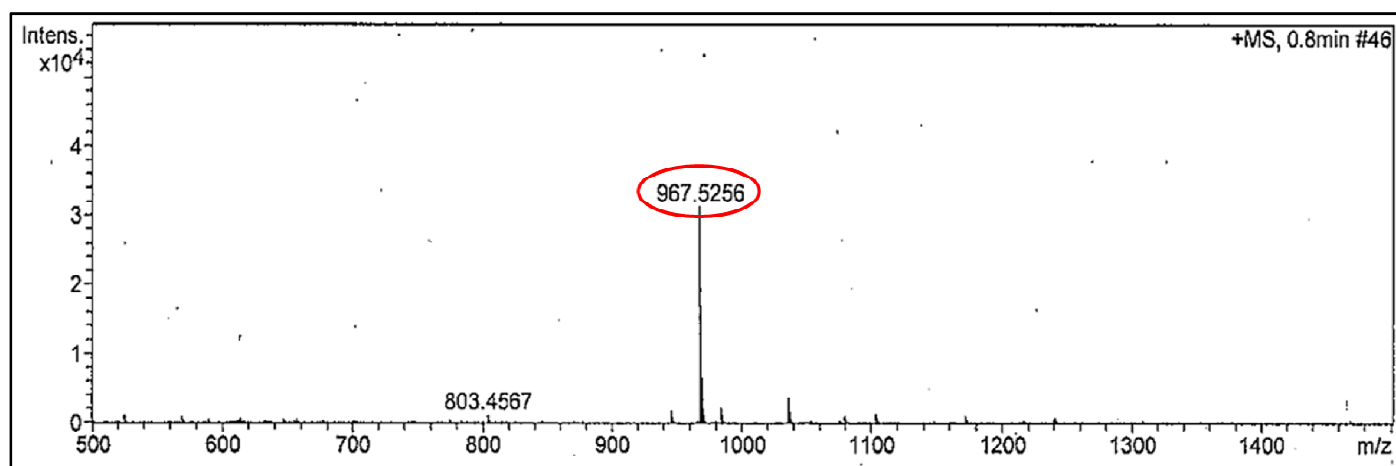


Figure 139 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS5.

Spectrométrie de RMN

Partie génine

Une comparaison des spectres RMN 1D et 2D de la partie aglycone du composé **BS1** et **BS5** a montré que la totalité des signaux et des déplacements chimiques de ces deux composés sont superposables.

Structure de la génine du composé BS5

En conséquence, la structure du composé **BS5** a été identifiée comme étant **3 β ,16 β ,23,28**-tétrahydroxyoléan-12-ene, ou **23 hydroxylongispinogénin**.

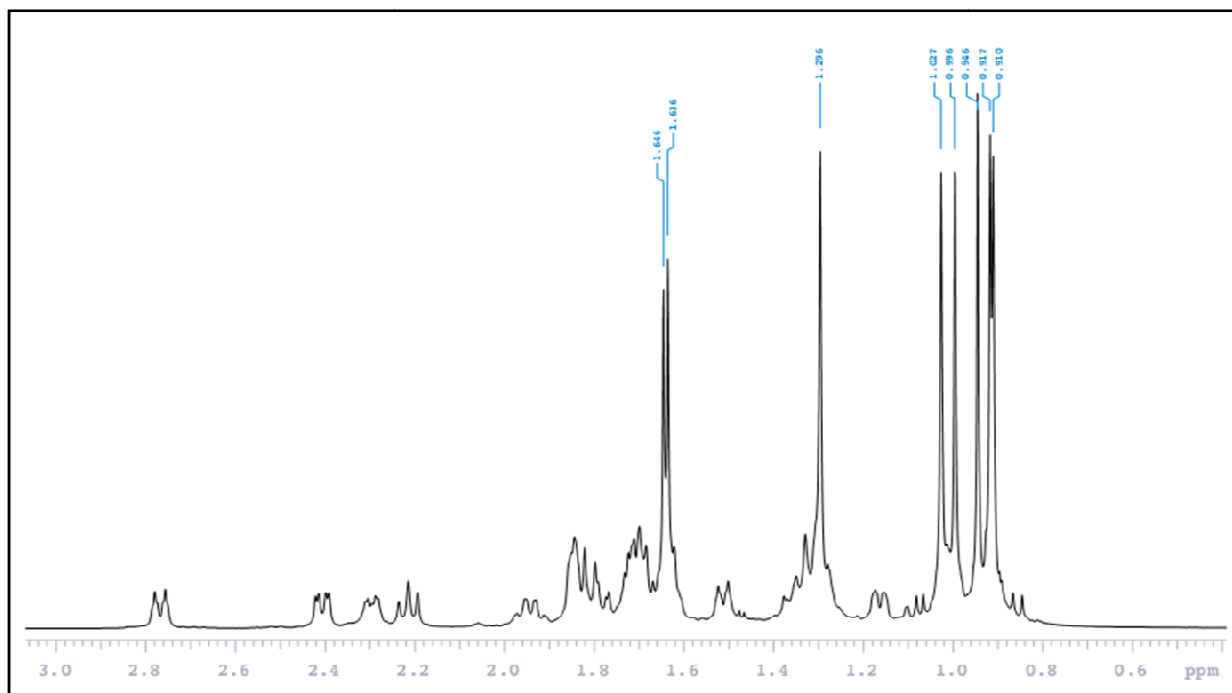


Figure 140 : Spectre RMN¹H du composé **BS5** (zone des méthyles).

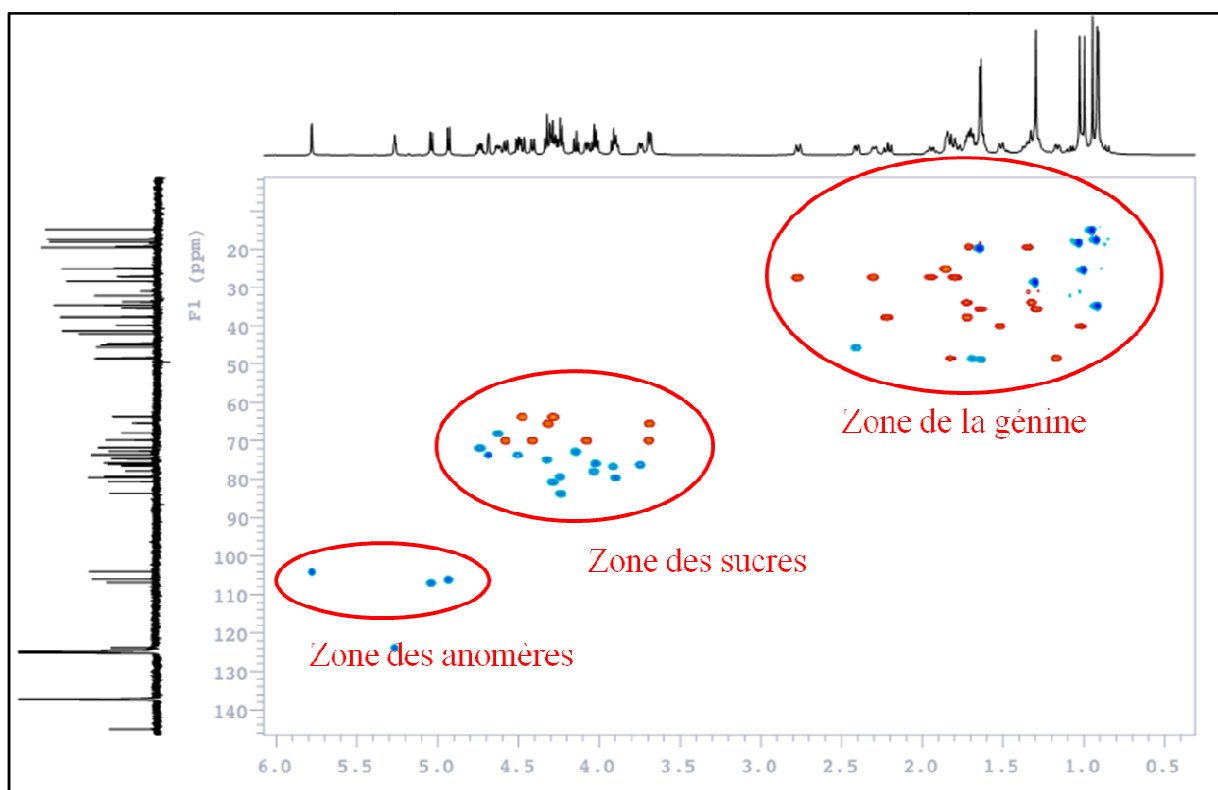


Figure 141 : Spectre HSQC du composé **BS5**.

Tableau 33 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS5** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_C	δ_H	Posit.	δ_C	δ_H
1	39.5	1.02, 1.51 m	3-O-Glc I		
2	27.1	1.80, 2.78 m	1	106.8	5.04 d (7.6)
3	83.6	4.25	2	76.5	3.92
4	44.6	-	3	77.7	4.04
5	48.5	1.63	4	80.6	4.28
6	19.3	1.35, 1.72	5	76.1	3.76 m
7	33.7	1.34, 1.72	6	69.8	4.08 dd (3.5, 10.5) 4.58
8	42.1	-	Glc II		
9	48.2	1.68	1	105.9	4.94 d (7.6)
10	37.6	-	2	75.7	4.02
11	25.1	1.86	3	79.1	4.24
12	123.8	5.26 t (3.7)	4	72.5	4.12
13	145.1	-	5	79.4	4.32
14	45.0	-	6	63.6	3.28, 4.56
15	37.8	1.74, 2.22 t (12.3)	Glc III		
16	67.8	4.62 dd (11.3, 4.6)	1	-	-
17	41.3	-	2	-	-
18	45.5	2.41 dd (14.0, 4.6)	3	-	-
19	48.3	1.17 m, 1.80	4	-	-
20	32.2	-	5	-	-
21	35.4	1.30, 1.64	6	-	-
22	27.2	1.94 m, 2.30 m	Rha		
23	65.3	3.70, 4.31	1	103.9	5.78 s
24	14.8	0.94 s	2	73.4	4.68
25	17.4	0.91 s	3	73.4	4.56
26	18.1	1.02 s	4	74.7	4.32
27	28.3	1.29 s	5	71.7	4.74
28	69.8	3.70, 4.42	6	19.6	1.63
29	25.3	0.99 s			
30	34.5	0.91 s			

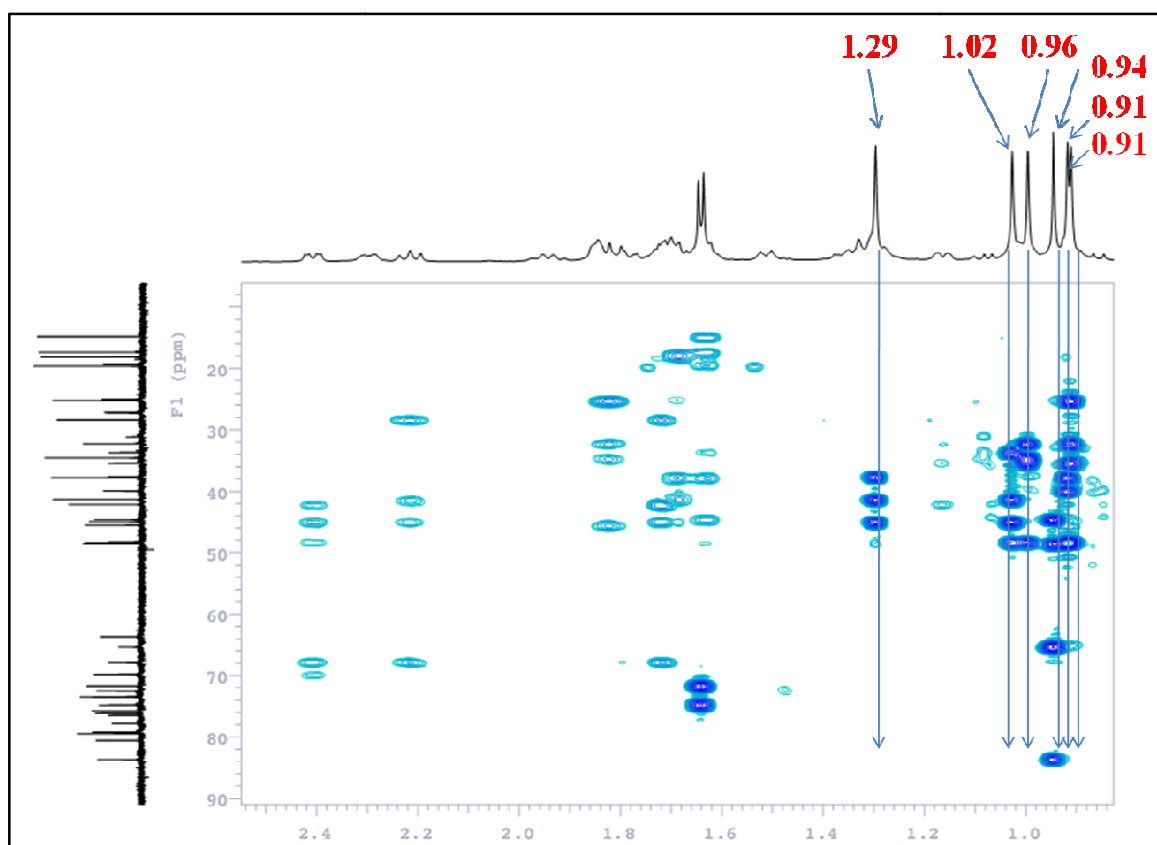


Figure 142 : Spectre HMBC du composé **BS5** (zone montrant les corrélations des méthyles).

Détermination de la nature, de l'enchaînement et de la fixation des sucres sur l'aglycone

L'analyse des spectres RMN-1D et 2D de **BS5** ont permis d'identifier la même unité trisaccharidique que celle du composé **BS4**.

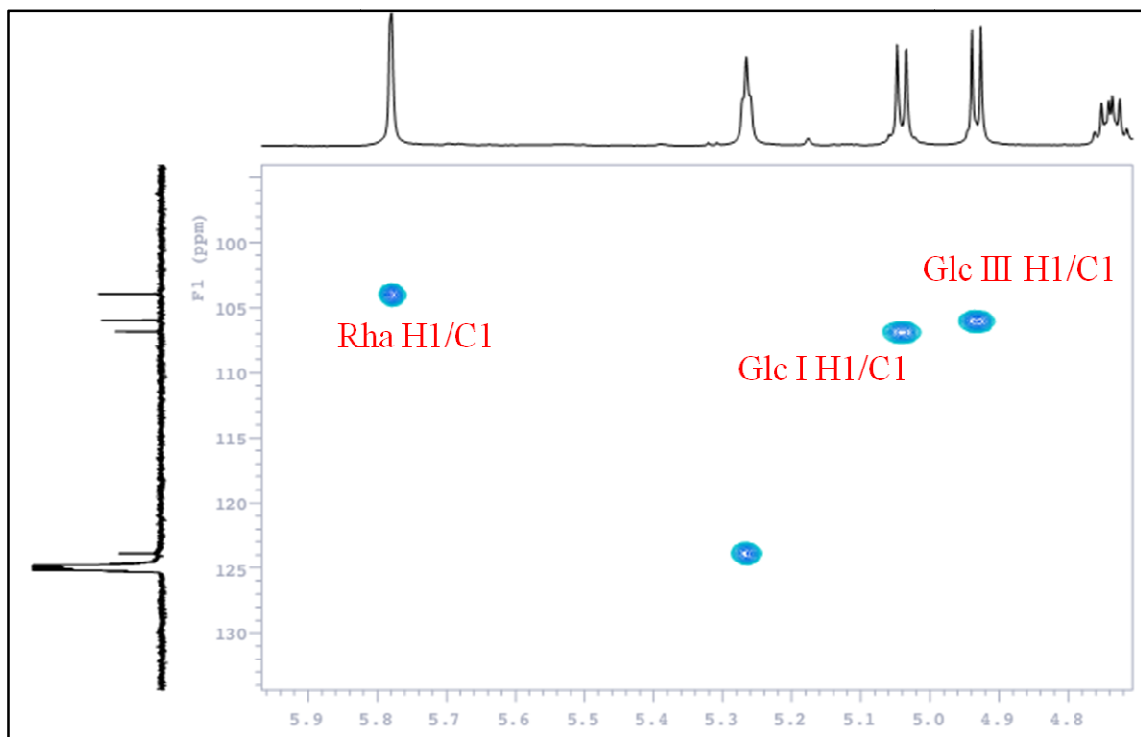


Figure 143 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS5**.

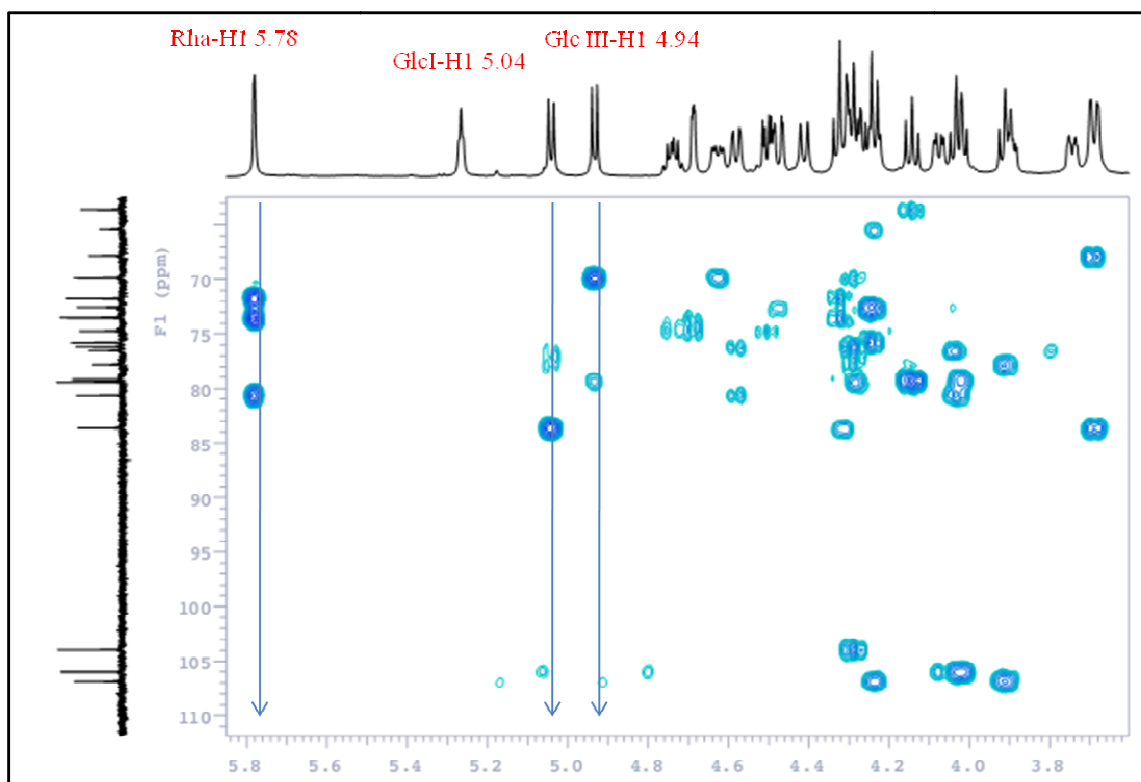


Figure 144 : Spectre HMBC montrant les corrélations des protons anomères et l'enchaînement des sucres du composé **BS5**.

Conclusion

Au vu des résultats précédents, le composé **BS5** a été identifié comme étant **-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,23,28-tétrahydroxyoléan-12-ene**. Un composé déjà isolé de *B. marginatum* et *B. falcatum* et nommé **nepesaikosaponine K** (Ishiguro et al., 2001; Fang et al., 2017)

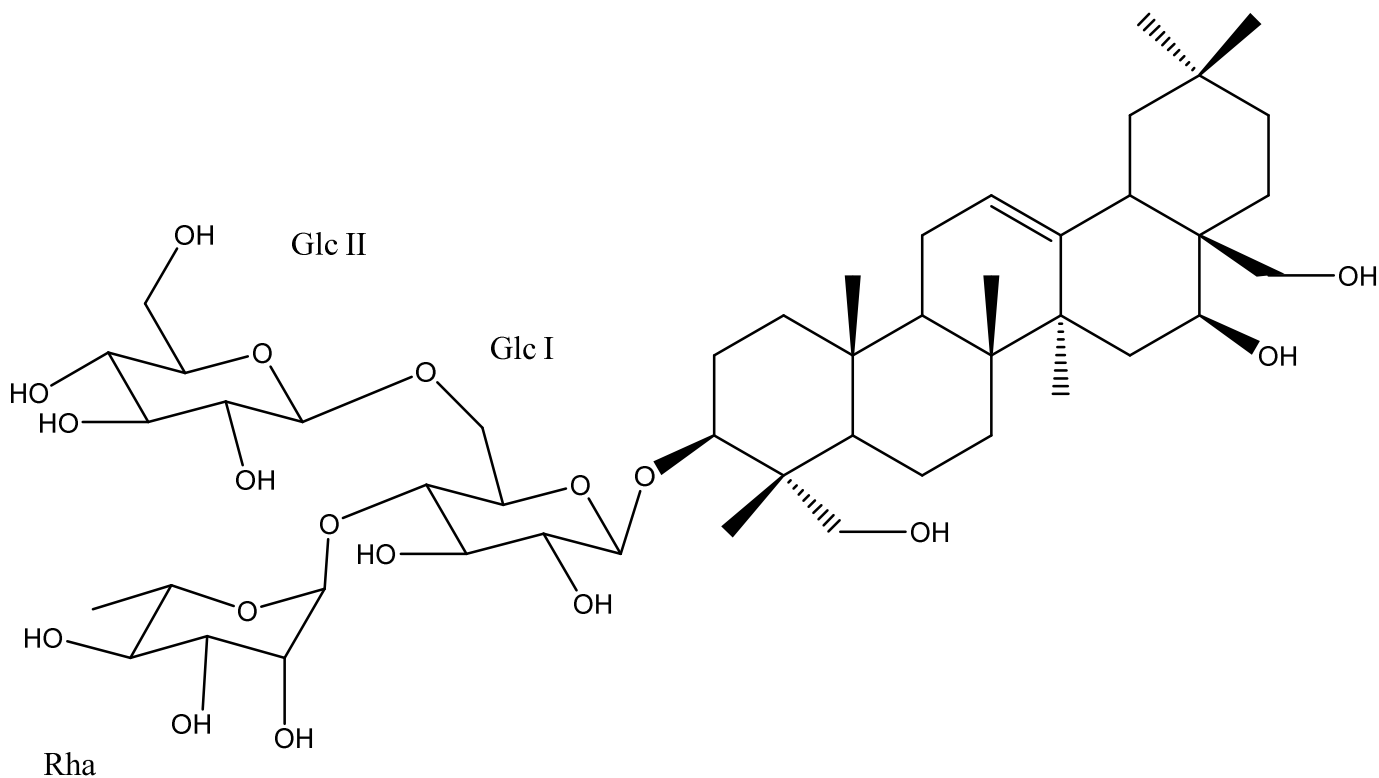


Figure 145 : Structure du composé naturel **BS5**.

V.2.6. Description du composé BS6

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé enregistré en mode positif révèle un pic de l'ion pseudo-moléculaire à $m/z = 965$ $[M+H]^+$, indiquant une masse moléculaire de 942 uma correspondant à une formule brute en $C_{48}H_{78}O_{18}$.

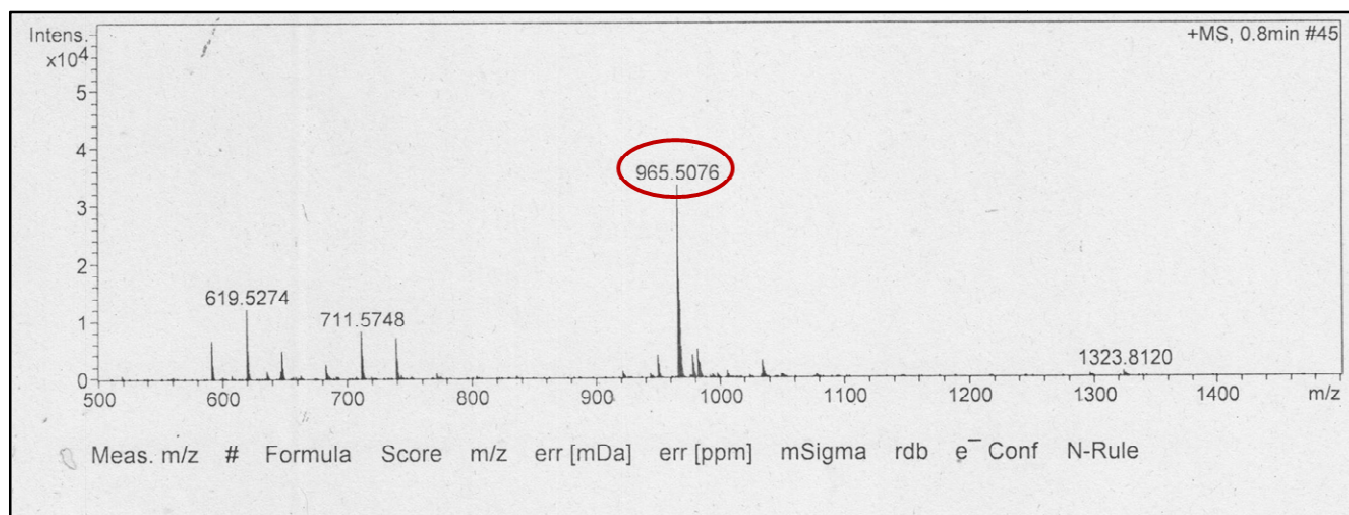


Figure 146 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé BS6.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

Le composé BS6 met en évidence en spectre RMN¹H :

- sept signaux de méthyles à δ_H 0.92 (H₃-24), 0.93 (H₃-25), 1.36 (H₃-26), 1.07 (H₃-27), 0.93 (H₃-29), et 0.89 (H₃-30) caractéristiques de saponines de type triterpène.
- un massif de protons résonant entre δ_H 1.02 et 2.52 correspondant aux CH- et CH₂- de la génine.
- des signaux à δ_H 3.68, 4.34 correspondant aux protons géminés du CH₂-23.
- deux signaux de deux protons à δ_H 4.26 et 4.52 correspondant aux fonctions alcooliques secondaires en C-3 et C-16 respectivement.
- deux signaux de deux protons déblindés à δ_H 5.66 (1H, dd, $J = 2.93, 9.96$ Hz) et 5.95 (1H, d, $J = 10.5$) suggérant une double liaison entre C-11 et C-12.

- deux protons méthylènes oxygénés à δ_H 3.36 d (1H, d, $J = 7.0$ Hz) et 4.24 d (1H, d, $J = 6.4$ Hz) correspondant aux protons géminés $\text{CH}_2\text{-O-28}$ indiquant la présence d'un pont méthylène-oxy (pont 13, 28 époxy)

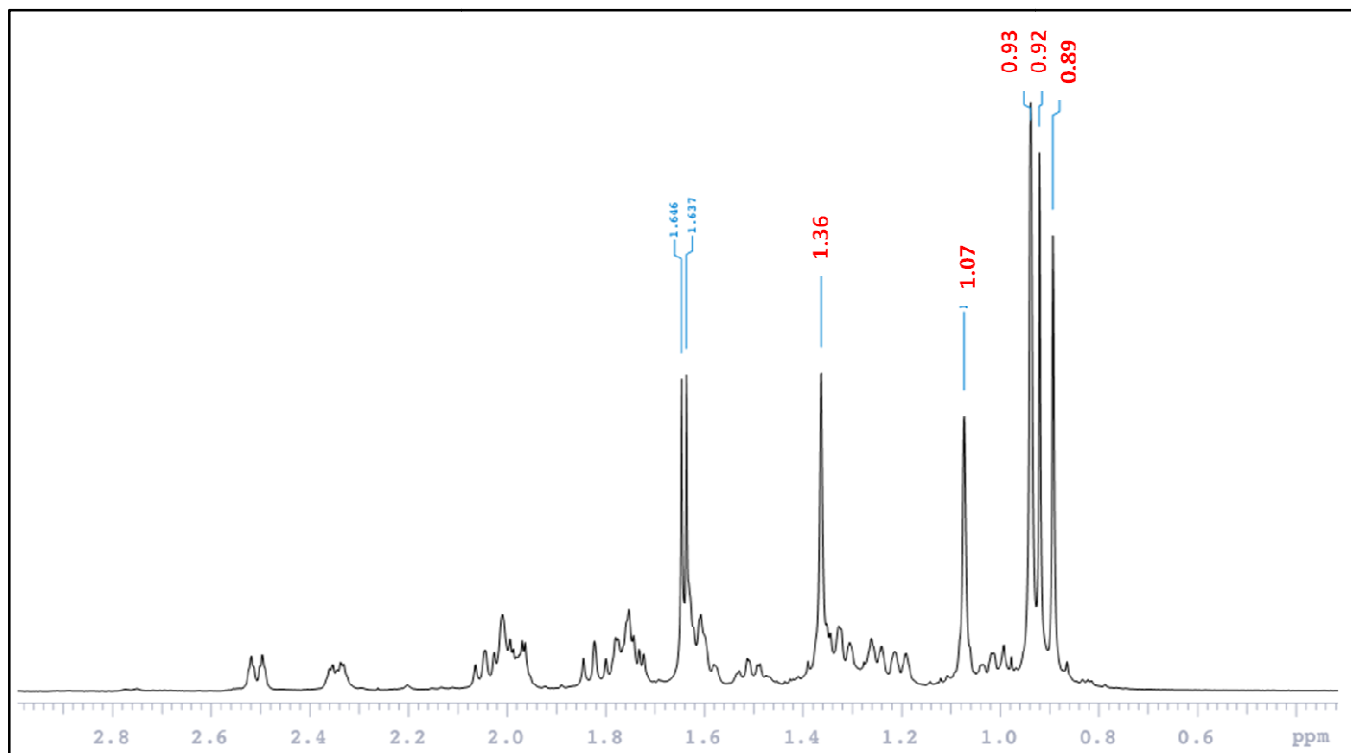


Figure 147 : Spectre RMN¹H du composé **BS6**.

Spectre RMN¹³C

Sur le spectre RMN¹³C, les signaux caractéristiques suivants sont repérés :

- 48 signaux dont 30 correspondent aux carbones de la génine, les 18 restants sont ceux de la chaîne saccharidique.
- six méthyles dont les carbones résonnent à δ_C 12.8 (CH₃-24), 18.4 (CH₃-25), 19.8 (CH₃-26), 20.6 (CH₃-27), 33.4 (CH₃-29) et 23.6 (CH₃-30).
- un ensemble de carbones apparaissant entre δ_C 17.3 et 52.7 correspondant aux CH-, CH₂- de la génine.
- le carbone C-16 et C-3 résonnent à δ_C 63.8 et 81.9, respectivement, du fait de l'effet déblindant des hydroxyles.
- un carbone oxydé a été observé à δ_C 63.6 (C-23).

- deux carbones déblindés à δ_C 131.7 (C-11) et 132.2 (C-12), suggérant une double liaison en ces positions.

- Le carbone CH₂-OH-28 à δ_C 72.7 déblindé par la présence du méthylène oxy.

Spectre HSQC

Les corrélations hétéronucléaires observées sur le spectre HSQC permettent d'attribuer les déplacements chimiques aux protons et aux carbones correspondants, les valeurs retrouvées sont reportées dans le tableau 34.

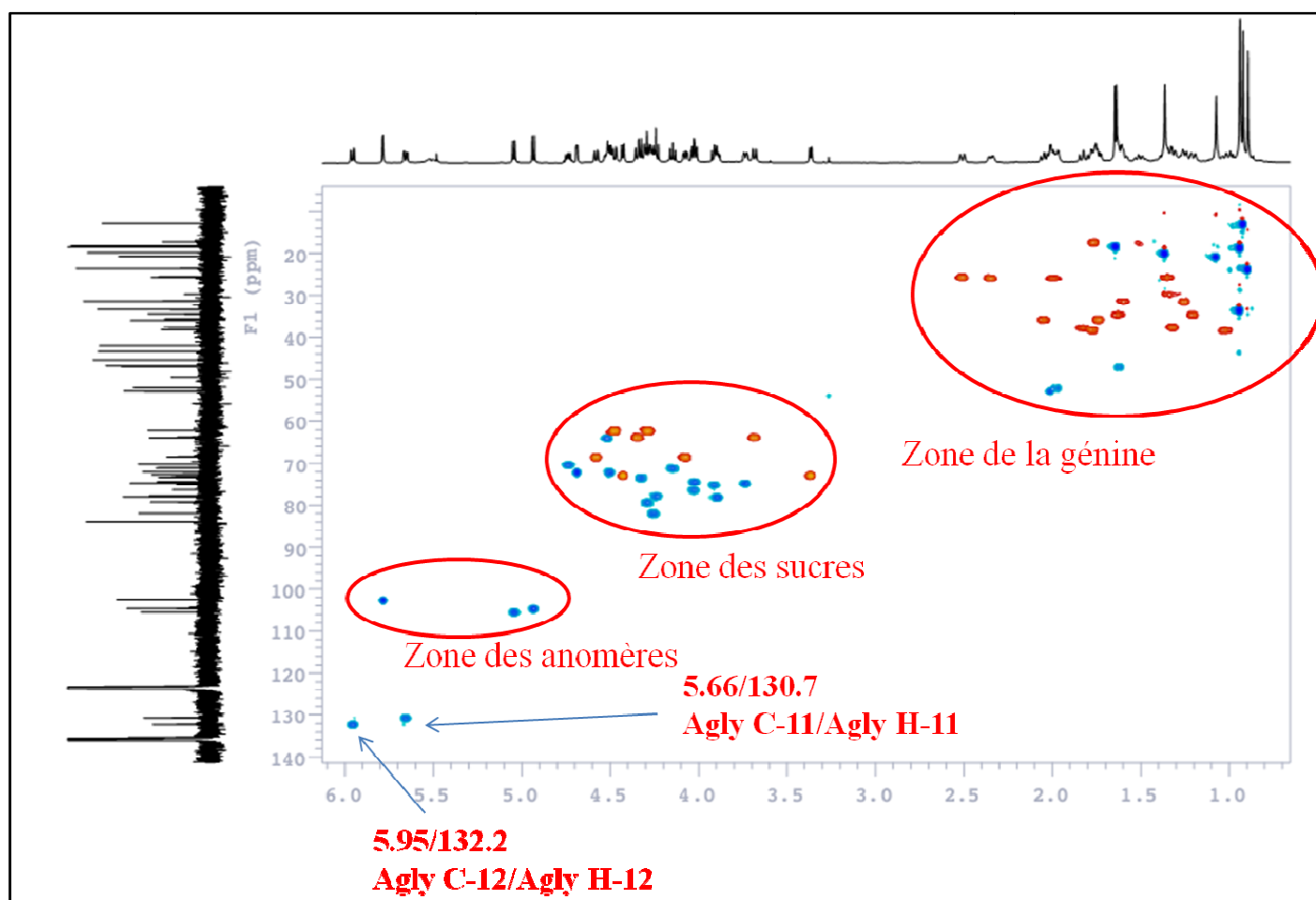


Tableau 34 : Déplacements chimiques RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) de la
génine, des sucres du composé **BS6** dans la pyridine d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_C	δ_H	Posit.	δ_C	δ_H
1	38.1	1.02, 1.77	3-O-Glc I		
2	25.5	2.00 m, 2.52 m	1	105.4	5.04 d (7.6)
3	81.9	4.26	2	75.0	3.91
4	43.3	-	3	76.3	4.03
5	46.7	1.62	4	79.2	4.28
6	17.3	1.50, 1.88	5	74.7	3.74
7	31.3	1.25, 1.60	6	68.4	4.08 dd (4.1, 11.13), 4.58
8	41.9	-	Glc II		
9	52.7	2.02	1	104.5	4.92 d (7.6)
10	35.9	-	2	74.3	4.02
11	131.7	5.66 dd (2.93, 9.96)	3	77.0	4.24
12	132.2	5.95 d (10.5)	4	71.1	4.14
13	83.9	-	5	78.0	4.15 m
14	45.4	-	6	62.2	4.29, 4.46
15	35.6	1.74, 2.05	Rha		
16	63.8	4.52	1	102.5	5.78 s
17	46.9	-	2	72.0	4.68
18	51.9	1.66	3	72.0	4.51
19	37.5	1.30, 1.84	4	73.3	4.33
20	31.2	-	5	70.2	4.74
21	34.4	1.21, 1.62	6	18.1	1.63 d (5.8)
22	25.6	1.34 m, 2.34 m			
23	63.6	3.68, 4.34			
24	12.8	0.92 s			
25	18.4	0.93 s			
26	19.8	1.36 s			
27	20.6	1.07 s			
28	72.7	3.36 d (7.0), 4.24 d (6.4)			
29	33.4	0.93 s			
30	23.6	0.89 s			

Spectre HMBC

L'analyse du spectre HMBC permet d'établir les couplages hétéronucléaires à longue distance avec les constantes de couplage $^2J_{H-C}$ ou $^3J_{H-C}$. L'interprétation des spectres HMBC optimise l'élucidation structurale de l'aglycone :

- les protons H₃-24 à δ_H 0.92 corrélient avec les carbones C-3 (81.9), C-4 (43.3), C-5 (46.7) et C-23 (63.6). Cette corrélation permet d'attribuer un hydroxyméthyle dans la position C-23, une fonction alcoolique en C-3.

- les protons du méthyle CH₃-25 à δ_H 0.93 corrélient avec les carbones C-1 à δ_C 38.1, C-5 à δ_C 46.7, C-9 à δ_C 52.7 et le carbone quaternaire C-10 à δ_C 35.9.

- les protons du méthyle CH₃-26 à δ_H 1.36 corrélient avec les carbones C-7 à δ_C 31.3, C-8 à δ_C 41.9, C-9 à δ_C 52.7 et C-14 à δ_C 45.4.

- les protons du méthyle CH₃-27 à δ_H 1.07 couplent avec les carbones C-8 à δ_C 41.9, C-13 à δ_C 83.9, C-14 à δ_C 45.4 et C-15 à δ_C 35.6. Cette corrélation confirme la présence d'un pont 13, 28 époxy.

- les protons H₃-29 à δ_H 0.93 et H₃-30 à δ_H 0.89 sont déduits de leurs corrélations avec le C-19 à δ_C 37.5, C-20 à δ_C 31.2 et C-21 à δ_C 34.4. Le CH₃-29 en position α -équatoriale, est plus déblindé que le CH₃-30 β -axial.

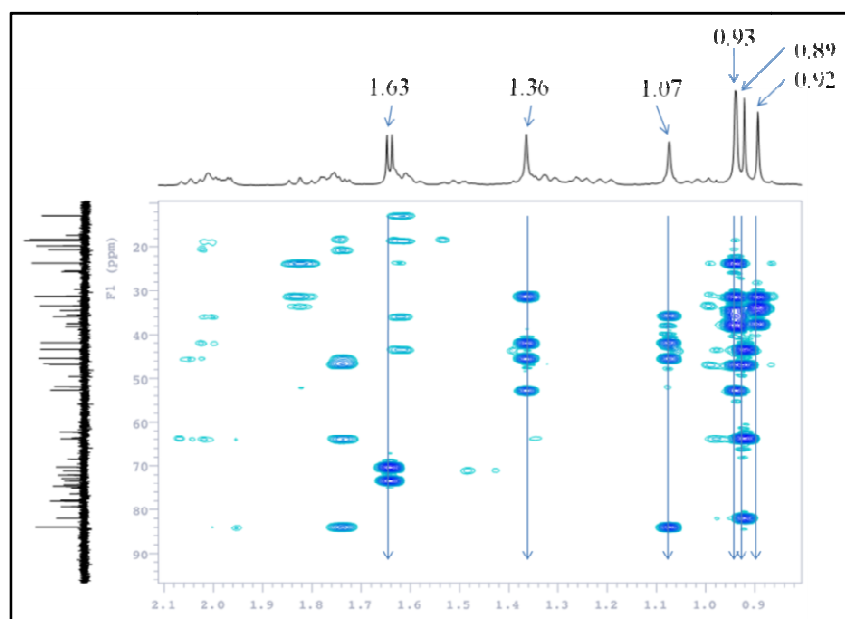


Figure 149 : Spectre HMBC du composé **BS6** montrant les corrélations des méthyles de l'aglycone.

Spectre ROESY

L'analyse du spectre ROESY nous a permis d'établir la stéréochimie de l'aglycone de **BS6**. Des taches de corrélations sont observées à δ_H/δ_H 4.26 (H-3)/1.62 (H-5) et à δ_H/δ_H 4.52 (H-16)/1.07 (H₃-27) suggérant l'orientation de H-3 en α -équatorial et de H-16 en α -équatorial. Par conséquent l'orientation des fonctions alcool secondaire sont β -axial en C-3 et β -axiale en C-16.

Structure de la génine du composé BS6

Ainsi la génine du composé **BS6** a été identifié comme étant **3 β ,16 β ,23-trihydroxy-13,28-epoxyoléan-11-ene** (saikosaponine F), précédemment isolé de plusieurs espèces de *bupleurum* (Tori et al., 1976).

Partie osidique

Détermination de la nature des sucres

L'analyse du spectre HSQC de la partie osidique du composé **BS6** permet de distinguer trois signaux de protons anomériques résonnant à δ_H 5.04 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.92 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), et 5.78 (1H, s) corrélant avec les signaux de quatre carbones à δ_C 105.4, 104.5 et 102.5, respectivement, ce qui prouve la présence de trois sucres. L'analyse approfondie des spectres RMN-1D et -2D a permis d'identifier la même séquence triasaccharidique en C-3 que celle du précédent composé **BS5**.

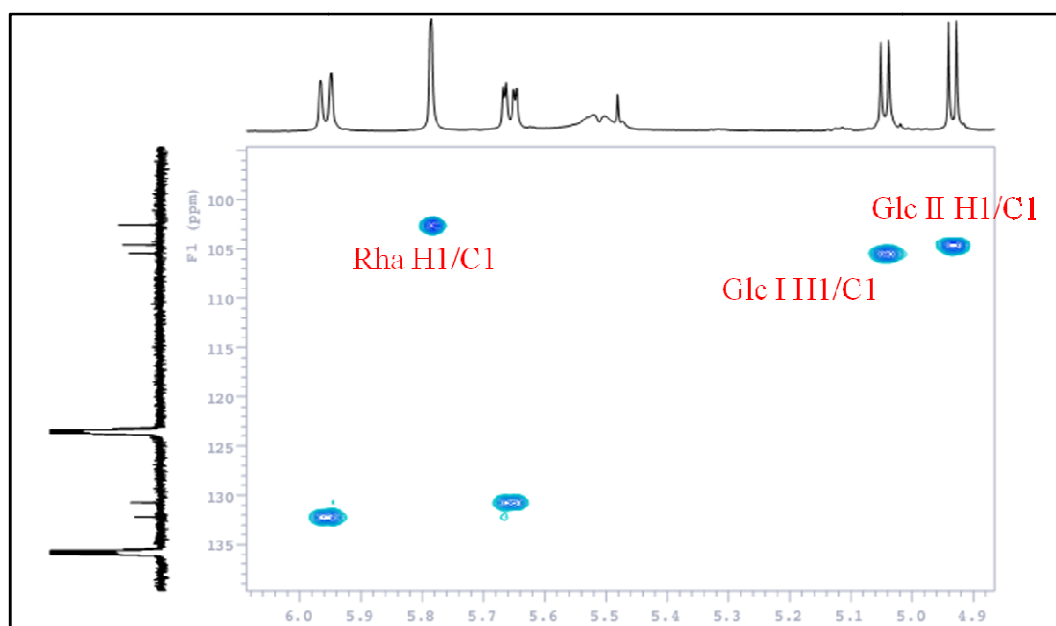


Figure 150 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS6**.

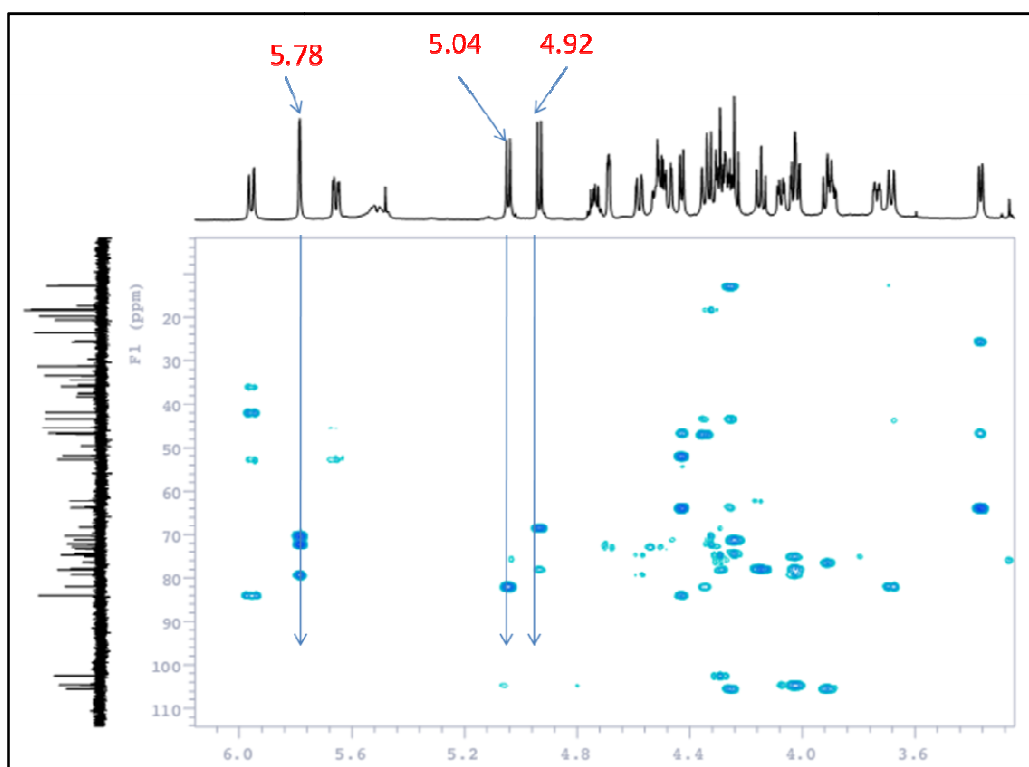


Figure 151 : Spectre HMBC du composé **BS6** montrant les corrélations des protons anomères.

Conclusion

Au vu des résultats obtenus, la structure de ce composé est élucidé au **3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,23-trihydroxy-13, 28-epoxyoléan-11-ene**, nommé **chikosaikoside II**, précédemment obtenu de *B. longerradiatum* (Kimata et al., 1982).

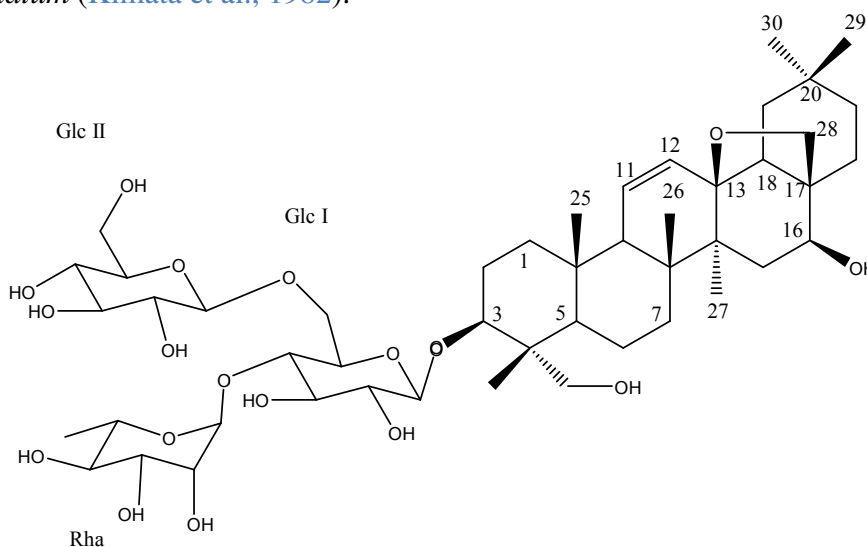


Figure 152 : Structure du composé **BS6**.

V.2.7. Description du composé BS7

Spectrométrie de masse

Le spectre de masse obtenu en ESI-MS en mode positif du composé **BS7** révèle un pic de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 1129 $[M+Na]^+$, qui indique une masse moléculaire de 1106, compatible avec la formule brute de $C_{53}H_{86}O_{24}$.

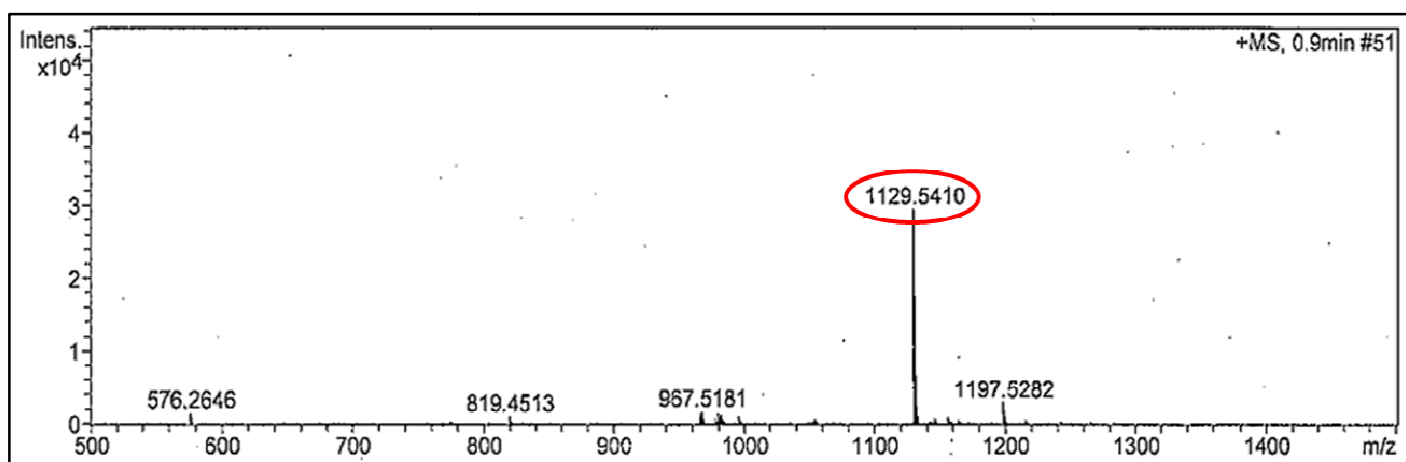


Figure 153 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **BS7**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

Spectre RMN¹H

L'analyse du spectre RMN¹H indique la présence de :

- 5 méthyles dont les déplacements chimiques sont observés à δ_H 1.00 (H₃-24), 0.98 (H₃-25), 0.81 (H₃-26), 1.64 (H₃-27), 1.45 (H₃-29).
- un massif de protons résonnant entre δ_H 1.09 et 2.66 correspondant aux CH- et CH₂- de la génine.
- deux signaux de protons portés par des carbones hydroxylés résonant à δ_H 4.23 (H-3) et 4.81 (H-16).
- deux paires de protons géminaux, observés à δ_H 3.72, 4.40 (H-23a, H-23b) et à δ_H 3.72, 4.31 (H-28a, H-28b), ils sont déblindés du fait de leur position sur des oxyméthylènes.

- trois signaux de protons d'oxyméthines avec des déplacements chimiques fortement déblindés, à δ_H 4.80 (H-2'), 4.52 (H-3'), 4.64 (H-4'). Ces protons sont ceux du xylitol fixé à la génine en C-30.
- d'autres signaux de protons portés par des carbones avec la fonction alcool sont observés à δ_H 5.06, 4.94 (H-1'a, H-1'b) et à δ_H 4.25, 4.52 (H-5'a, H-5'b) et appartiennent au xylitol.
- deux signaux de protons oléfiniques à δ_H 5.66 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-11) et 6.61 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-12).

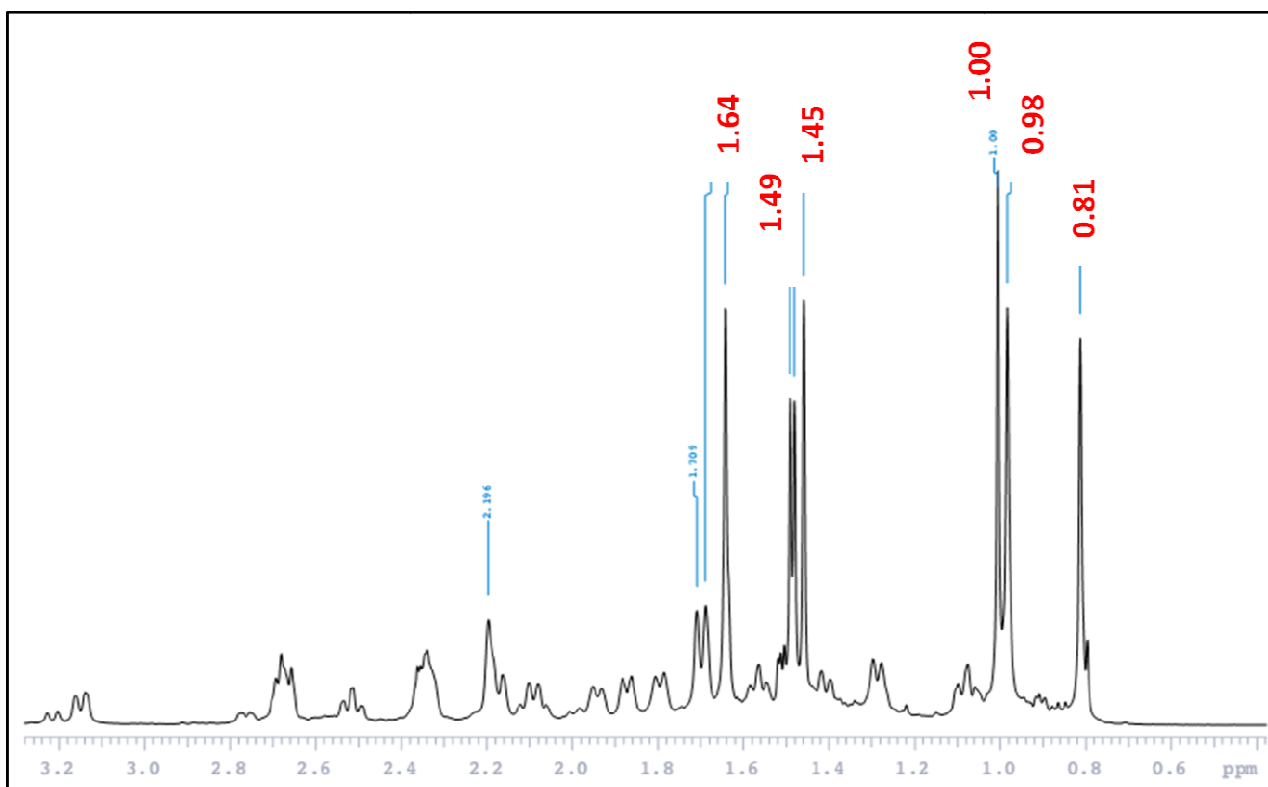


Figure 154 : Spectre RMN¹H du composé BS7 (zone des méthyles).

Spectre RMN¹³C

Le spectre RMN¹³C montre les caractéristiques suivantes :

- 53 atomes de carbones, dont 30 sont ceux de la génine, 23 à la chaîne oligosaccharidique et au xylitol.
- 5 fonctions méthyles à δ_C 14.2 (C-24), 19.9 (C-25), 18.4 (C-26), 23.0 (C-27), 22.2 (C-29).
- deux carbones déblindés à δ_C 128.2 (C-11) et 127.1 (C-12), suggérant une double liaison en C-11 et C-12.

- deux carbones quaternaires très fortement déblindés à δ_C 131.8 (C-18) et 138.9 (C-13), indiquant la présence d'une deuxième double liaison en C-13 et C-18.
- deux carbones hydroxylés, déblindés à δ_C 83.2 (C-3) et 68.7 (C-16). Le xylitol présente aussi deux carbones hydroxylés à δ_C 68.6 (C-1') et 65.9 (C-5').
- cinq carbones oxydés ont été observés, dont 2 sont à δ_C 65.8 (C-23) et 65.1 (C-28), les trois autres sont observés à δ_C 73.3 (C-2'), 75.1 (C-3'), 75.4 (C-4') et appartiennent au xylitol.
- un signal caractéristique, relevé à δ_C 180.4 (C-30), correspond à un groupement carbonyle d'une fonction acide.

Spectre HSQC

L'expérience HSQC permet d'attribuer les déplacements chimiques des carbones et des protons, par l'analyse des corrélations hétéronucléaires J_{H-C} observées (tableau 35).

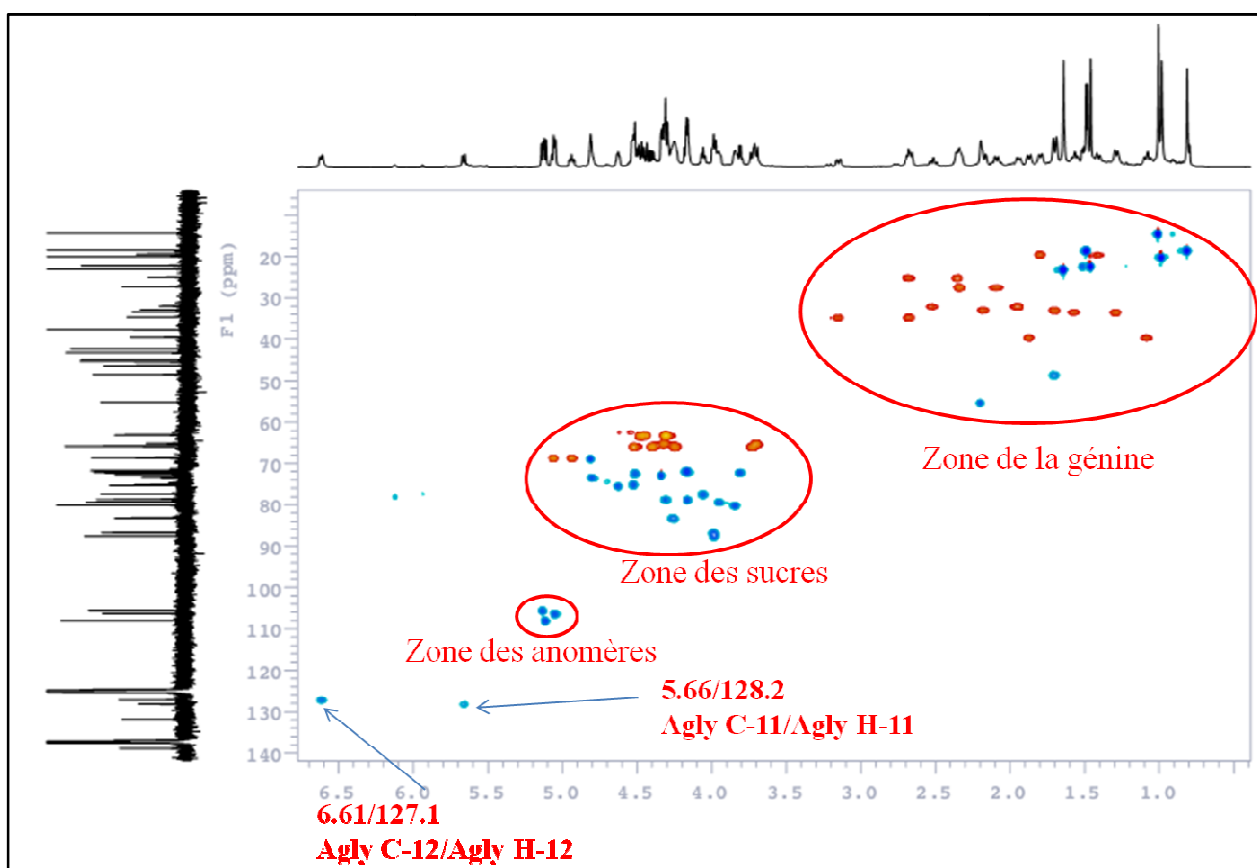


Figure 155 : Spectre HSQC du composé BS7.

Tableau 35 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS7** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.			Posit.		
1	39.5	1.09 m, 1.88 m	3-O-Fuc		
2	27.3	2.10, 2.34	1	106.3	5.05 d (7.0)
3	83.2	4.23 m	2	72.0	4.50
4	44.8	-	3	87.6	3.98
5	48.5	1.70	4	72.7	4.33
6	19.3	1.82 m, 1.44 m	5	72.2	4.32
7	33.3	1.30 m, 1.58 m	6	18.4	1.49 d (6,4)
8	43.1	-	Glc I-(1→3)-Fuc		
9	55.1	2.19	1	105.5	5.13 d (8.2)
10	37.6	-	2	86.8	3.98
11	128.2	5.66 d (10.5)	3	78.7	4.32
12	127.1	6.61 d (9.3)	4	71.8	3.82
13	138.9	-	5	79.3	3.96
14	42.3	-	6	63.2	4.28, 4.44
15	32.8	1.70 d (12.3), 2.19	Glc II-(1→2)-Glc I		
16	68.7	4.81	1	107.9	5.11 d (8.2)
17	46.4	-	2	77.3	4.06
18	131.8	-	3	78.6	4.16
19	34.6	2.66, 3.14 d (14.0)	4	71.7	4.16
20	45.4	-	5	80.1	3.85
21	31.9	1.96 m, 2.52 m	6	63.2	4.33, 4.50
22	24.9	2.36, 2.68	Xylitol		
23	65.8	3.72, 4.40	1'	68.8	5.06, 4.94
24	14.2	1.00 s	2'	73.3	4.80
25	19.9	0.98 s	3'	75.1	4.52
26	18.4	0.81 s	4'	75.4	4.64
27	23.0	1.64 s	5'	65.9	4.25, 4.52
28	65.1	3.72, 4.31			
29	22.2	1.45 s			
30	180.4	-			

Spectre HMBC

L'expérience HMBC, a révélé les corrélations entre protons et carbones distants de une à quatre liaisons ($^2J_{H-C}$, $^4J_{H-C}$), elle permet l'attribution des carbones et protons de la génine.

- les protons du méthyle CH₃-24 à δ_H 1.00 est détecté par sa corrélation, avec les carbones C-3 à δ_C 83.2, C-4 quaternaire à δ_C 44.8, C-5 à δ_C 48.5 et C-23 à δ_C 65.8.

- les protons CH₃-25 à δ_H 0.98 corrént avec les carbones C-1 à δ_C 39.5, C-5 à δ_C 48.5, C-9 à δ_C 55.1 et le carbone quaternaire C-10 à δ_C 37.6.

- les protons CH₃-26 à δ_H 0.81 corrént avec les carbones C-7 à δ_C 33.3, C-8 à δ_C 43.1, C-9 à δ_C 55.1 et C-14 (quaternaire) à δ_C 42.3.

- les protons du méthyle CH₃-27 à δ_H 1.64 corrént avec les carbones connus C-8 à δ_C 43.1, C-13 à δ_C 138.9, C-14 à δ_C 42.3, et C-15 à δ_C 32.8.

- les protons du méthyle CH₃-29 à δ_H 1.45 corrént avec les carbones C-19 à δ_C 34.6 et C-20 à δ_C 45.4, C-21 à δ_C 31.9, et C-30 à δ_C 180.4. Cette corrélation a permis de confirmer la position de la fonction carbonyle acide en C-30.

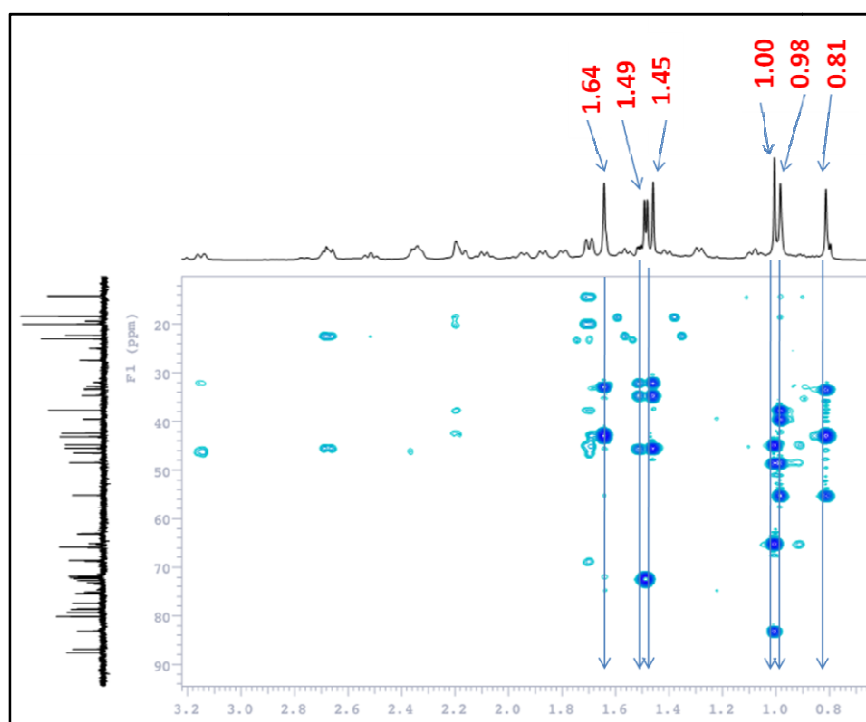


Figure 156 : Spectre HMBC du composé **BS7** montrant les corrélations des méthyles de l'aglycone.

Spectre NOESY

L'expérience NOESY fournit des informations spatiales. Elle est alors importante dans l'élucidation de la stéréochimie des carbones asymétriques de l'aglycone. L'orientation des deux fonctions alcool sont déterminés par corrélation NOESY à δ_H/δ_H 4.23/1.70 (H-3/H-5), et à δ_H/δ_H 4.81/1.64 (H-16/H-27), suggérant l'orientation de H-3 en α et de H-16 en β .

Structure de la génine du composé BS7

Par conséquent, la génine du composé **BS7** est identifiée comme étant **3 β ,16 α ,23,28-tétrahydroxy-oléan-11,13 (18)-diène** (Barrero et al., 2000).

Partie osidique

Détermination de la nature des sucres

Les taches de corrélations dans le spectre HSQC de **BS7** montrent, respectivement, trois protons anomériques à δ_H 5.05 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 5.13 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), et 5.11 (1H, d, $J = 8.2$ Hz) corrélant avec trois carbones à δ_C 106.3, 105.5, et 107.9, respectivement, indiquant la présence de trois sucres. L'interprétation des spectres COSY, TOCSY, NOESY et HSQC permet l'identification de :

- deux β -D-glucopyranosyl.
- un β -D-fucopyranosyl.

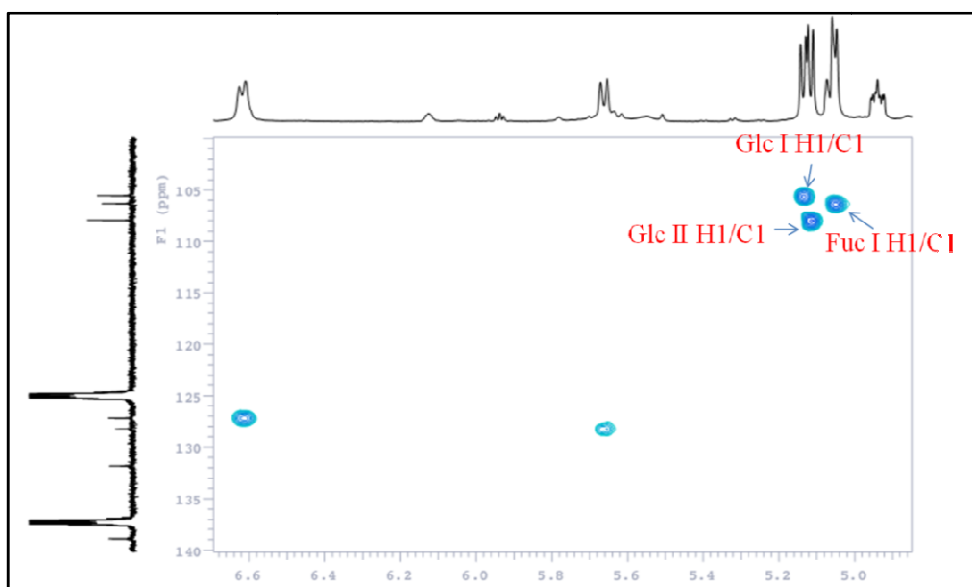


Figure 157 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS7**.

Détermination de l'enchaînement des sucres et leur fixation sur l'aglycone

L'enchaînement des sucres est déterminé grâce aux spectres HMBC et NOESY qui révèlent :

- les corrélations HMBC à δ_H/δ_C 5.05 (Fuc H-1)/83.2 (Agly C-3), 5.13 (GlcI H-1)/87.6 (FucI C-3), 5.11 (GlcII H-1)/86.8 (GlcI C-2), et les corrélations ROESY δ_H/δ_H 5.05 (Fuc H-1)/4.23 Agly H-3), 5.11 (GlcI H-1)/3.98 (Fuc H-3), et 5.11 (GlcII H-1)/3.98 (GlcI H-2) confirment la séquence ainsi caractérisée Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Fuc.

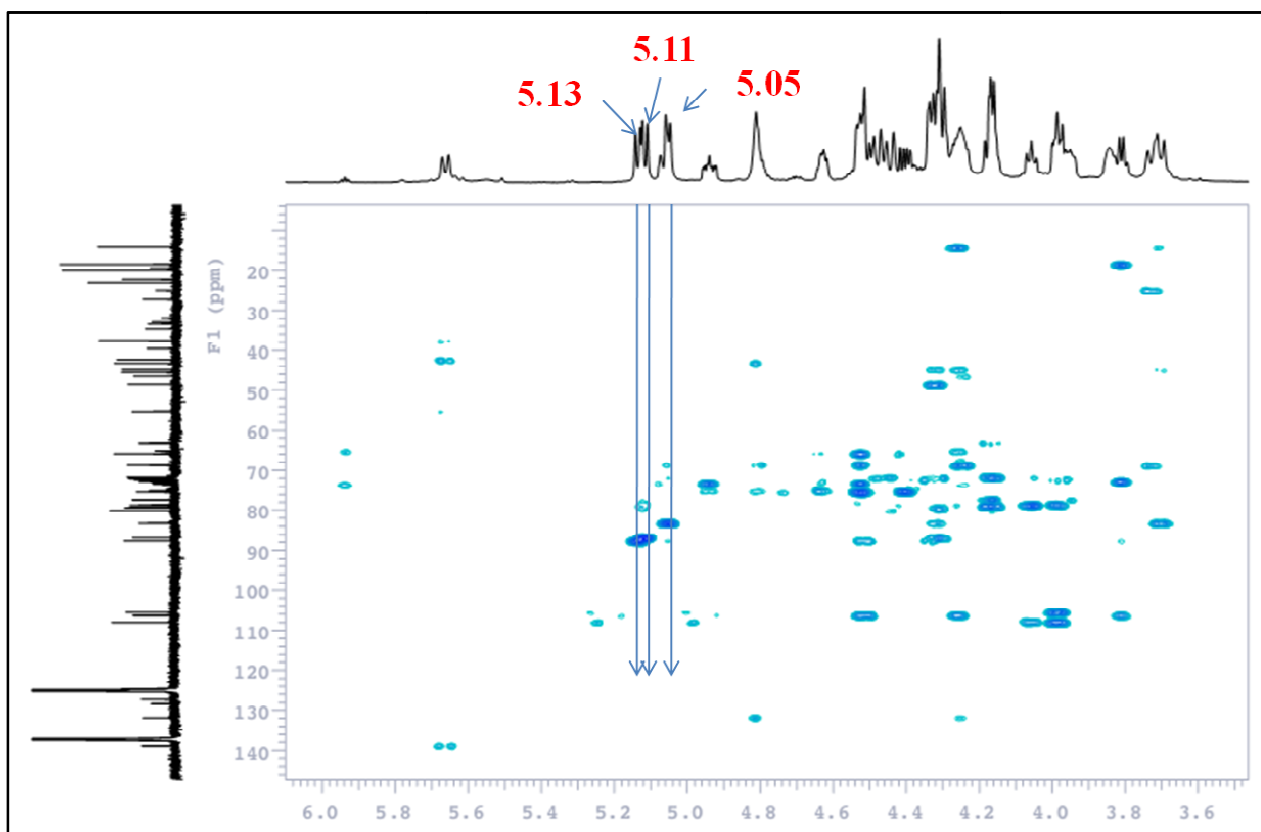


Figure 158 : Spectre HMBC du composé **BS7** montrant les corrélations des protons anomères.

Détermination de la fixation du xylitol à l'aglycone

La fixation du xylitol à l'aglycone est déterminée par la corrélation HMBC à δ_H/δ_C 4.94/180.4, ce qui suggère que le xylitol est fixé sur la position 30 de l'aglycone.

Conclusion

Au vu des résultats d'analyse détaillée de tous les spectres, le composé **BS7** a été identifié comme étant l'**acide 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-fucopyranosyl-30-O-xylitol-3 β ,16 α ,23,28-tétrahydroxy-oléan-11,13(18)-dien-30-oïque**, nommé saikosaponine v-2, précédemment isolé de *B. Chinense* (Liang et al., 2001; Liu et al., 2001).

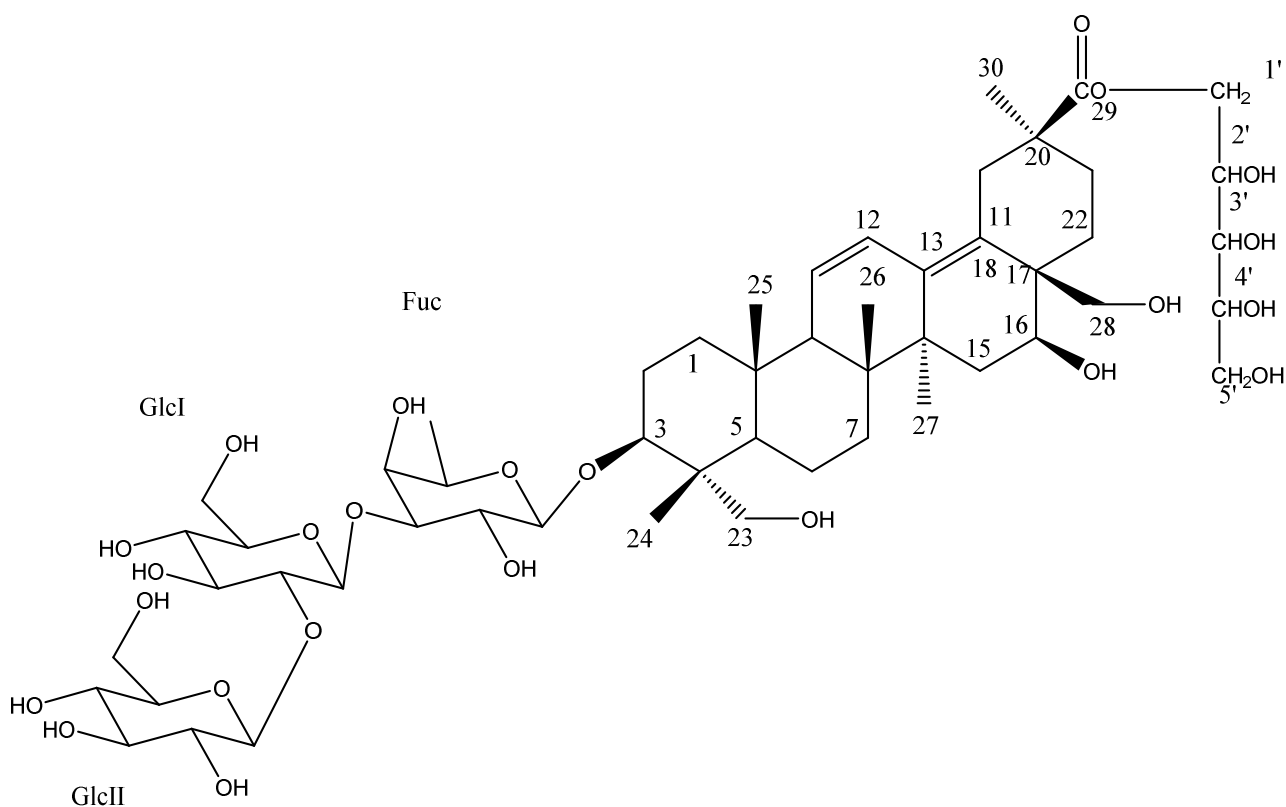


Figure 159 : Structure du composé naturel **BS7**.

V.2.8. Description du composé BS8

Spectrométrie de masse

L'analyse du spectre de masse du composé **BS8** obtenu en ESI-MS en mode positif permet d'observer un ion de l'ion pseudo-moléculaire à m/z 967 $[M+Na]^+$, suggérant une masse moléculaire de 944 uma, en accord avec la formule brute $C_{47}H_{76}O_{19}$.

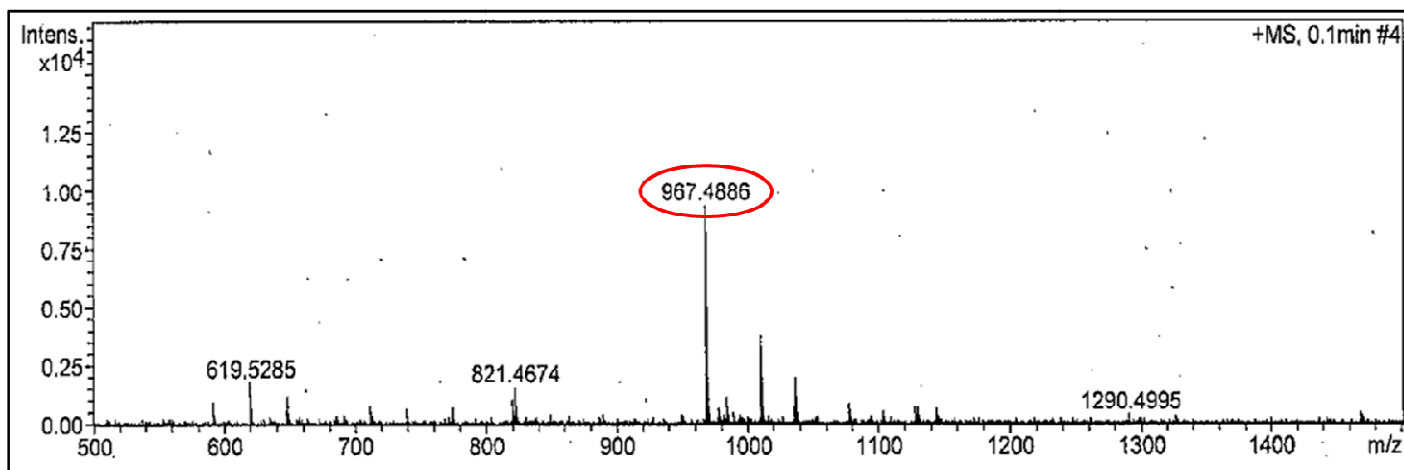


Figure 160 : Spectre de masse en ESI-MS en mode positif du composé **BS8**.

Spectrométrie RMN

Partie génine

L'analyse des spectres RMN 1D et 2D du composé **BS8** montre des signaux et des déplacements chimiques quasi-similaires à ceux du composé **BS7**.

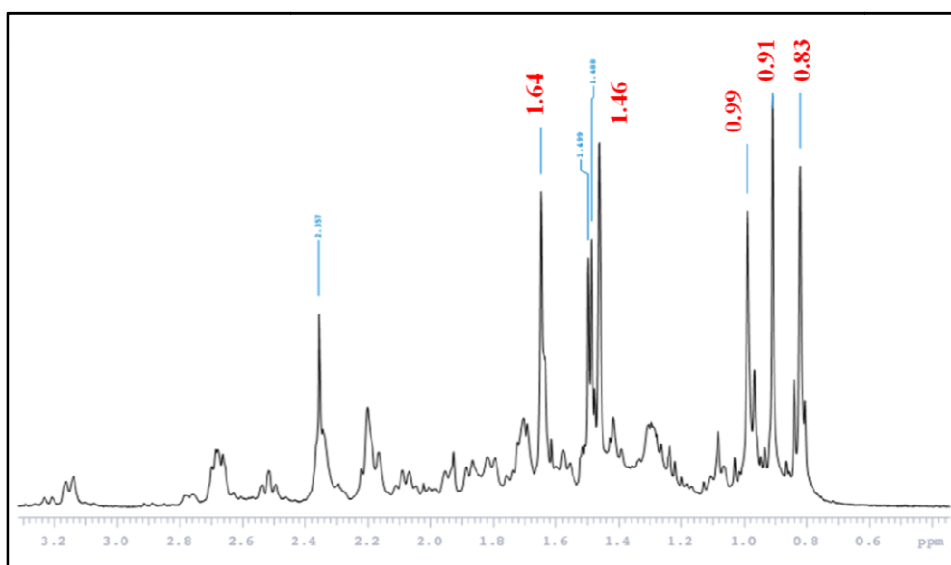


Figure 161 : Spectre RMN¹H du composé **BS8** (zone des méthyles).

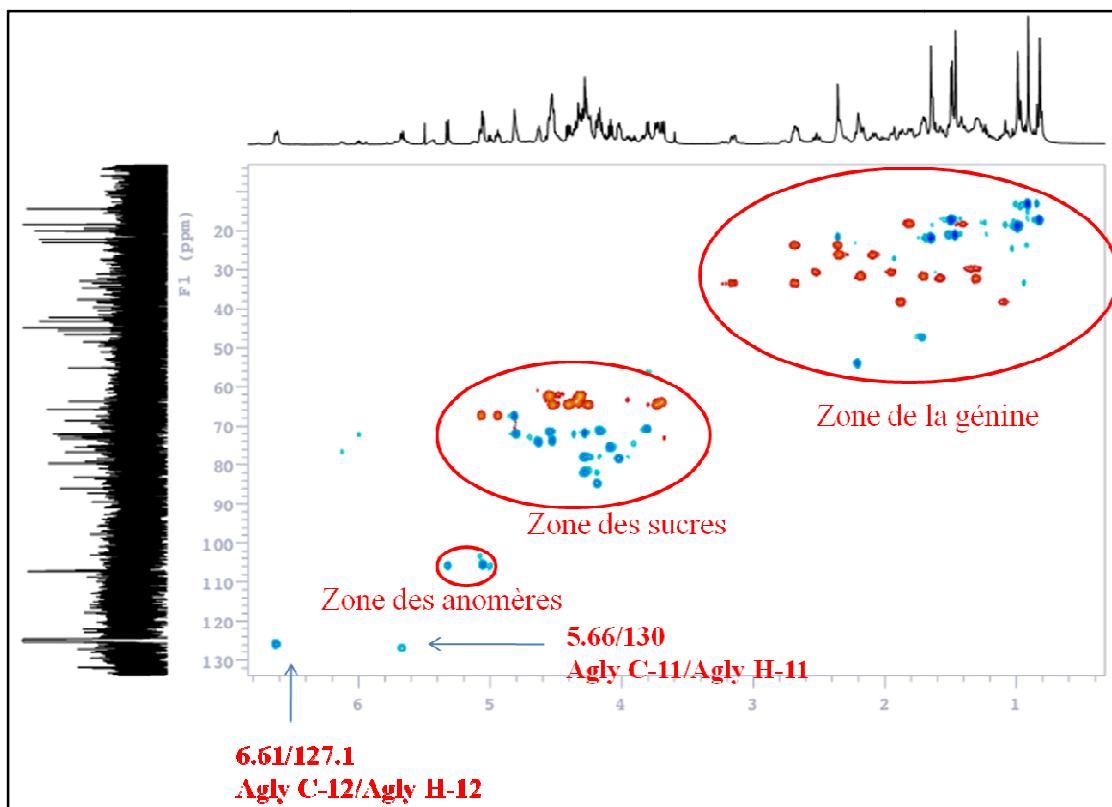


Figure 162 : Spectre HSQC du composé BS8.

Tableau 36 : Déplacements chimiques en RMN¹H (600 MHz) et RMN¹³C (150 MHz) du composé **BS8** dans la pyridine-d₅ (δ en ppm, J en Hz).

Posit.	δ_H	δ_C	Posit.	δ_H	δ_C
1	39.1	1.09 m, 1.89 m	3-O-Fuc		
2	27.3	2.19, 2.40	1	106.9	5.05 d (7.0)
3	83.0	4.27 m	2	72.0	4.50
4	44.8	-	3	86.0	3.98
5	48.5	1.72	4	72.6	4,28
6	19,1	1.40 m, 1.82 m	5	71,2	3,81
7	33,8	1.30 m, 1.59 m	6	18,4	1,48 d (6,4)
8	43,2	-	Glc II-(1→3)-Glc I		
9	55.1	2.10	1	107.1	5.11 d (8.2)
10	37.6	-	2	76,6	4,06
11	130	5.66 d (10.5)	3	79,1	4,16
12	127.1	6.61 d (9.3)	4	71,9	4,16
13	138.9	-	5	79,6	3,85
14	42.3	-	6	63,2	4,32, 4,56
15	32.8	1.72 d (12.3), 2.18	Xylitol		
16	68.7	4.82	1	68,8	4,94, 5,06
17	46.4	-	2	73,3	4,8
18	131.8	-	3	75,1	4,53
19	34.6	2.68, 3.16 d (14.0)	4	75,4	4,63
20	45.4	-	5	65,9	4,53, 4,26
21	32.0	1.96 m, 2.52 m			
22	24.5	2.40, 2.68			
23	65.8	3.72, 4.40			
24	14.3	0,91 s			
25	18.4	0.99 s			
26	18.4	0.83 s			
27	23.0	1.64 s			
28	65.1	3.70, 4.33			
29	22.2	1.46 s			
30	180.4	-			

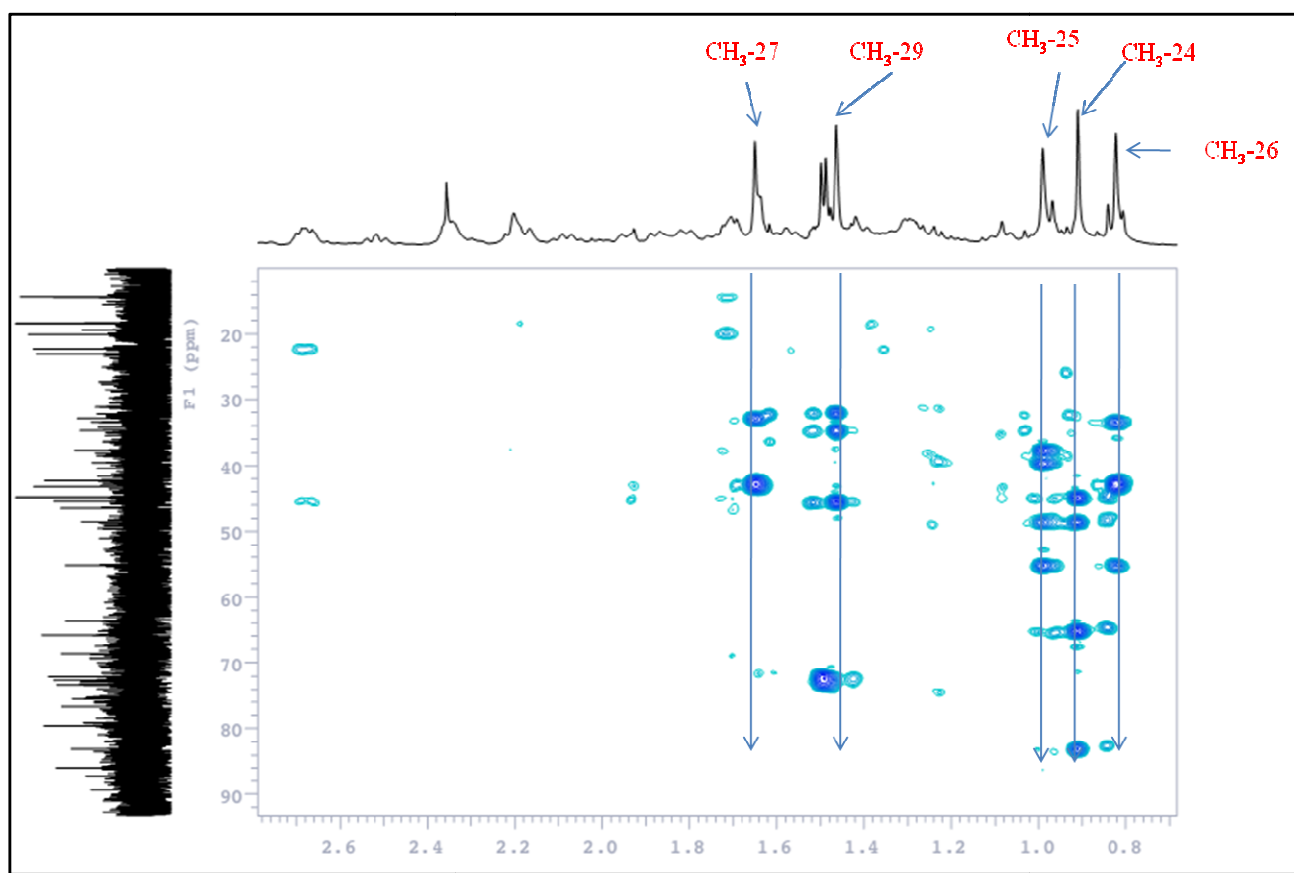


Figure 163 : Spectre HMBC du composé **BS8** montrant les corrélations des méthyles.

Structure de la génine du composé BS8

Ainsi, la génine est identifiée au **3 β ,16 α ,23,28-tétrahydroxy-oléan-11,13 (18)-diène** (Barrero., 2000).

Partie osidique

Détermination de la nature des sucres

Les taches de corrélation dans le spectre HSQC du composé **BS8** montrent deux protons anomériques à δ_H 5.05 (H, d, $J = 7.0$ Hz) et 5.11 (H, d, $J = 8.2$ Hz) corrélant avec deux carbones à δ_C 106.9 et 107.1 respectivement, indiquant la présence de deux sucres. L'interprétation des spectres COSY, TOCSY, NOESY et HSQC permet l'identification de :

- un β -D-glucopyranosyl.
- un β -D-fucopyranosyl.

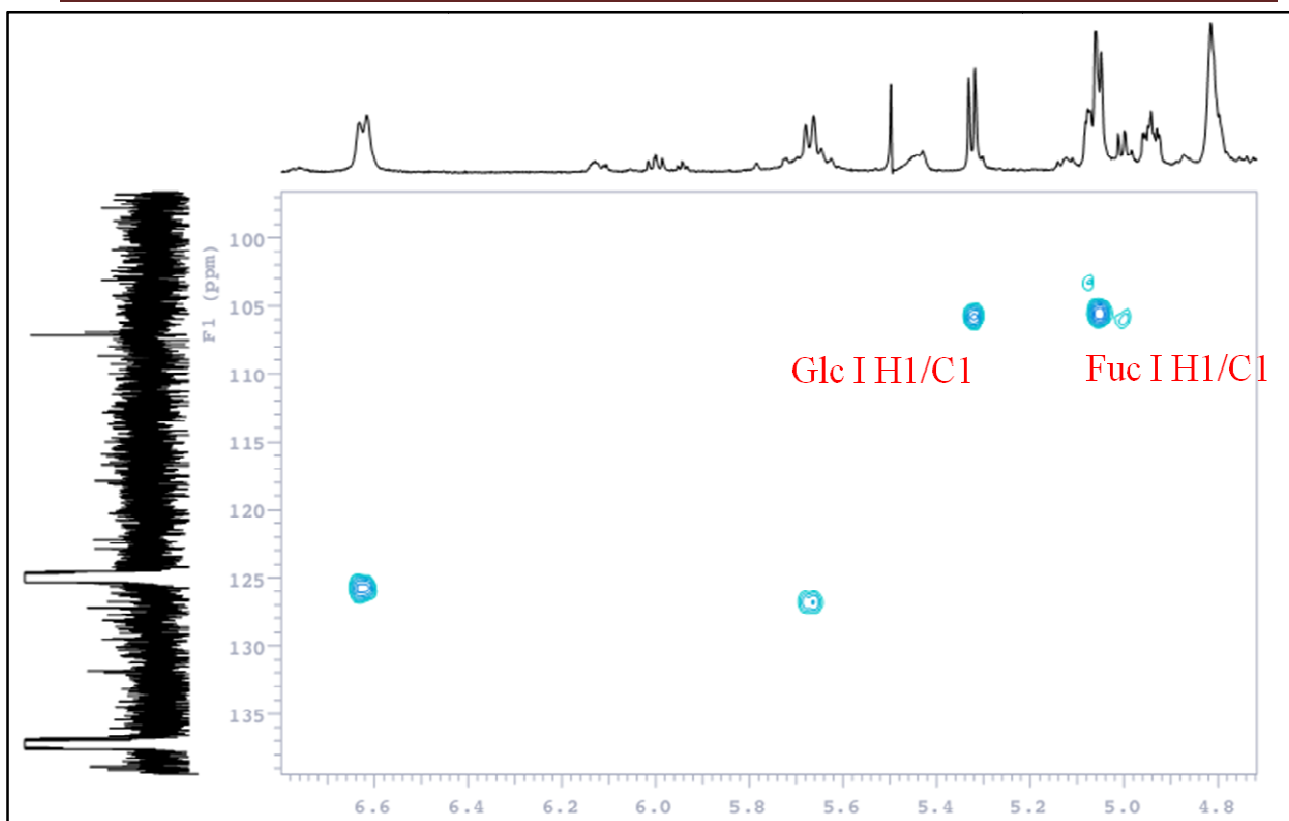


Figure 164 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **BS8**.

Détermination de l'enchaînement des sucres et leur fixation sur l'aglycone

L'enchaînement des sucres est déterminé grâce aux spectres HMBC et NOESY qui révèlent :

- les corrélations HMBC à δ_H/δ_C 5.05 (Fuc H-1)/83.0 (Agly C-3), 5.11 (Glc H-1)/86.0 (Fuc C-3), la corrélation ROESY δ_H/δ_H 5.05 (Fuc H-1)/4.27 (Agly H-3), 5.11 (Glc H-1)/3.98 (Fuc H-3). La séquence ainsi caractérisée est Glc-(1→3)-Fuc.

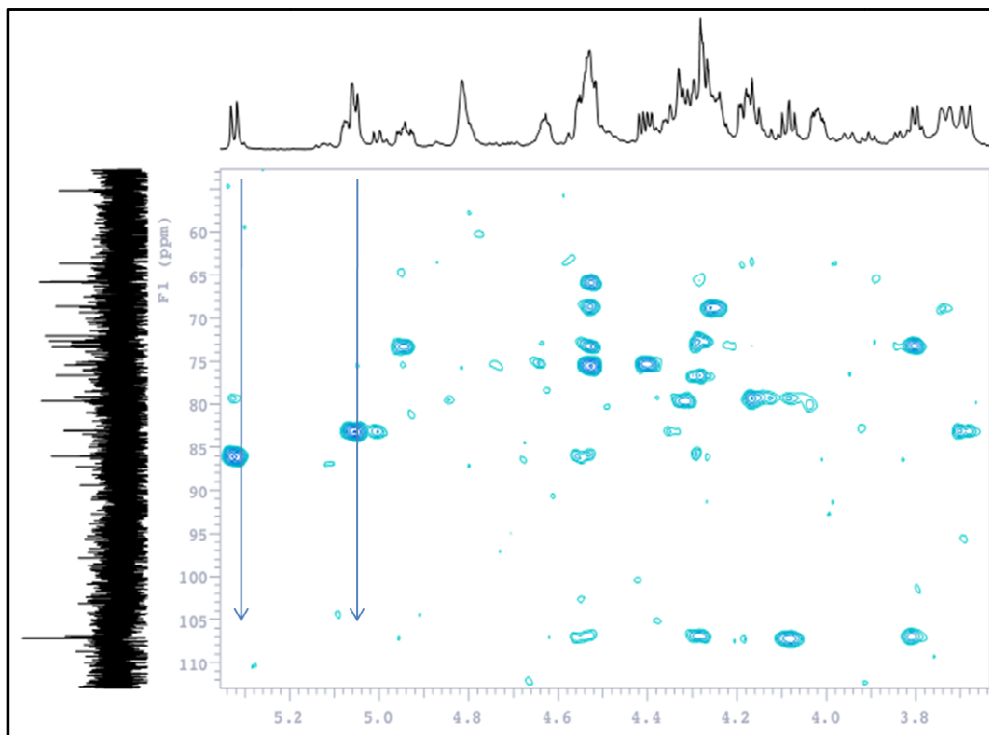


Figure 165 : Spectre HMBC du composé **BS8** montrant les corrélations des anomères.

Détermination de la fixation du xylitol à l'aglycone

La fixation du xylitol à l'aglycone est déterminée par la corrélation HMBC à δ_H/δ_C 4.94/180.4, ce qui suggère que le xylitol est fixé sur la position C-30 de l'aglycone.

Conclusion

Au vu des résultats d'analyse détaillée de tous les spectres, le composé **BS8** a été identifié comme étant l'acide **3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-fucopyranosyl-30-O-xylitol-3 β ,16 α ,23,28-tétrahydroxy-oléan-11,13 (18)-dien-30-oïque** nommé saikosaponine v-1, isolé précédemment de *B. chinense* (Liang et al., 2001; Liu et al., 2001).

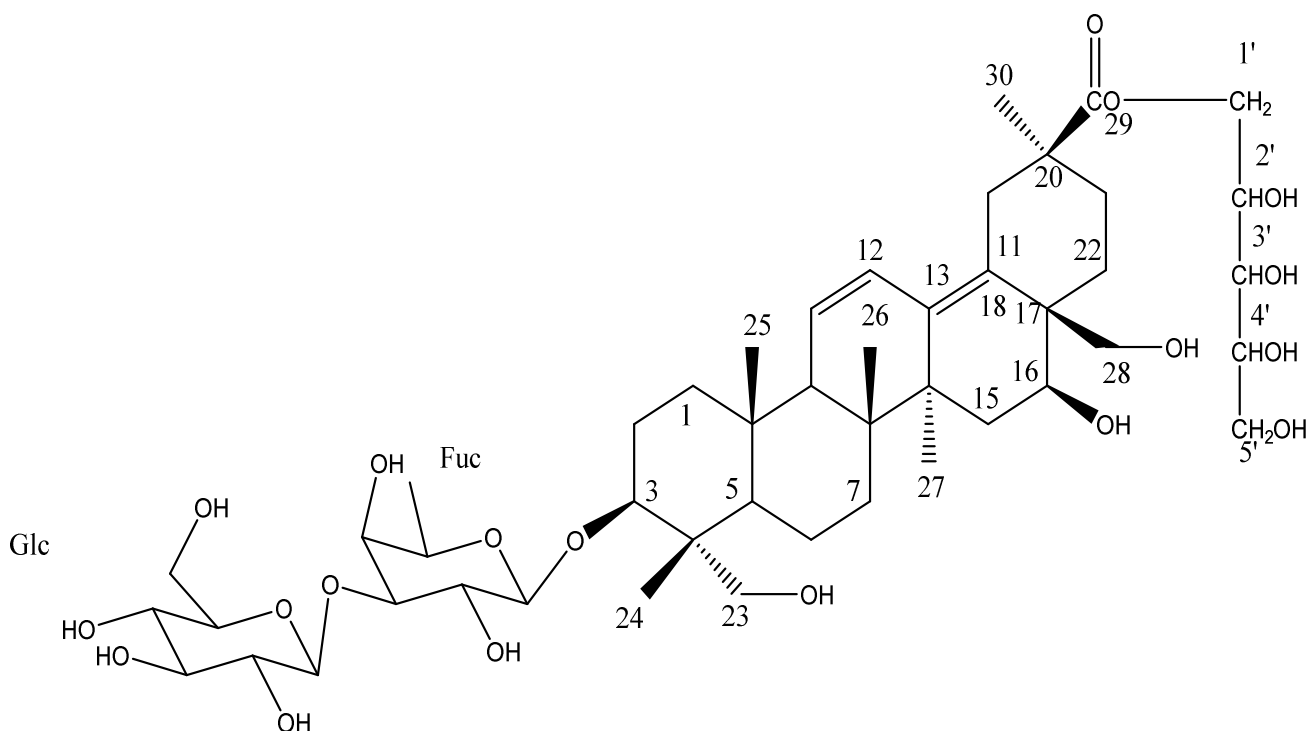


Figure 166 : Structure du composé naturel **BS8**.

VI. Etude biologique

VI.1. Activité anti-oxydante

VI.1.1. *A. tenuifolius* Cav.

Le radical DPPH est généralement l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH et comparés à une molécule de référence (acide ascorbique).

La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC_{50}) des extraits et de l'acide ascorbique; la valeur d' IC_{50} la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l' IC_{50} est exprimée en $\mu\text{g/ml}$.

Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et de chaque extrait d'*A. tenuifolius*. Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration.

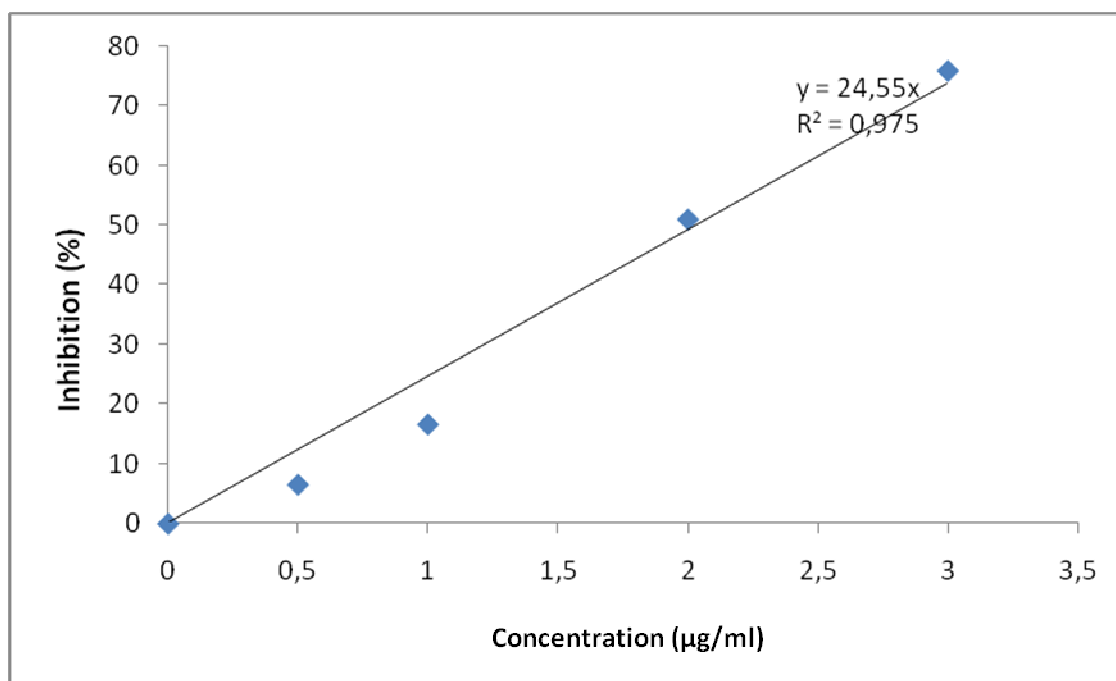


Figure 167 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

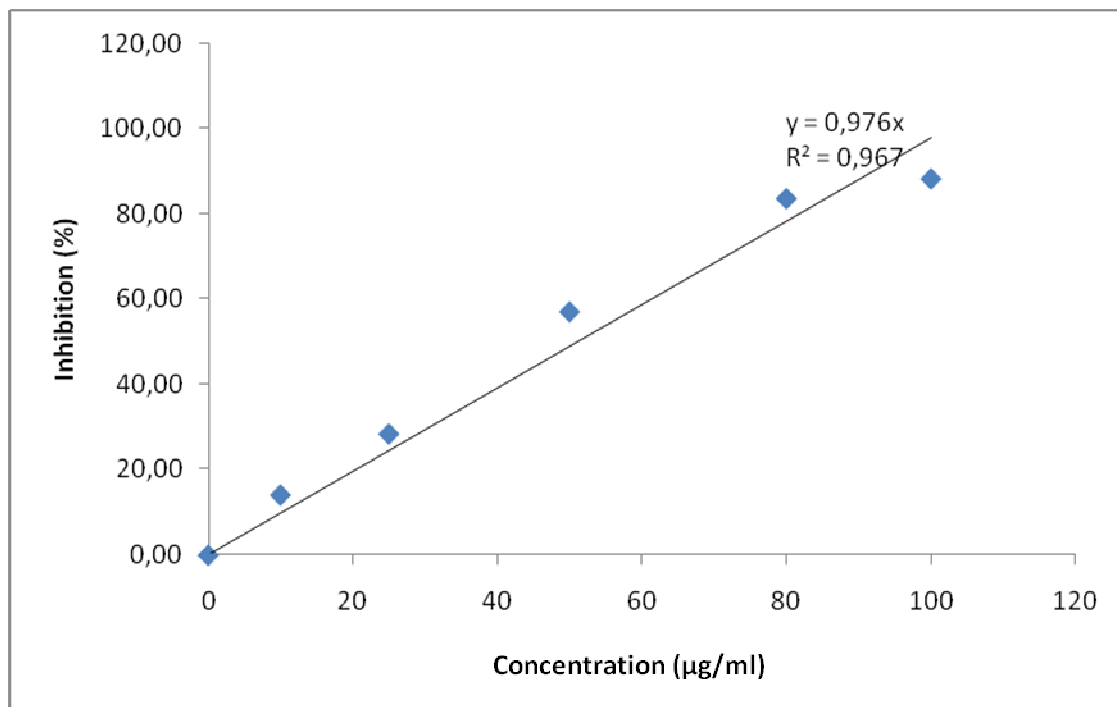


Figure 168 : Evolution des pourcentages d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l’extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des parties aériennes d’*A. tenuifolius* Cav.

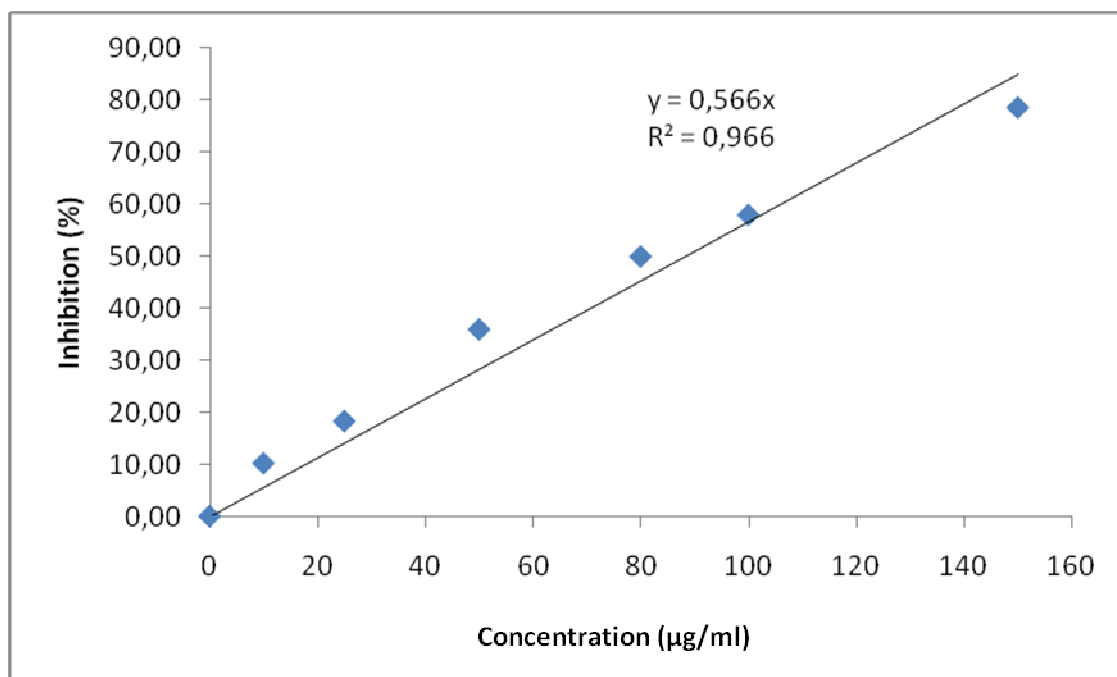


Figure 169 : Evolution des pourcentages d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l’extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des racines d’*A. tenuifolius* Cav.

Nous avons déterminé pour chaque extrait, l'IC₅₀ à partir des équations de régression linéaires des graphes, et les activités anti-radicalaires. Les valeurs sont représentées dans le tableau :

Tableau 37 : Valeurs des IC 50 des extraits d'*A. tenuifolius* Cav.

	IC ₅₀ (µg/ml)	A _{AR} (1/ IC ₅₀)
Extrait éthanolique des parties aériennes	51.22 ± 4.06 ^B	0.0195
Extrait éthanolique des racines	88.33 ± 4.15 ^C	0.0113
Acide ascorbique	2.05 ± 0.04 ^A	0.48

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures ± SD (Standard déviation)

Test Anova, P<0.05

A, B et C (test de Tukey)

VI.1.2. *B. spinosum* Gouan

Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait de *B. spinosum*.

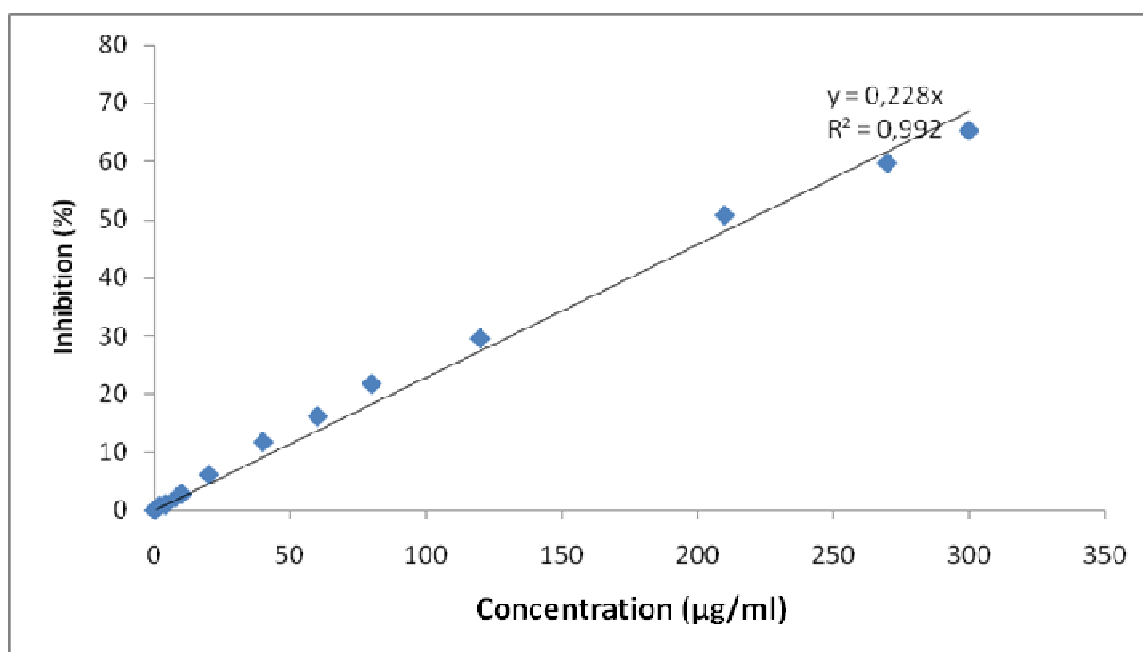


Figure 170 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des parties aériennes de *B. spinosum* Gouan.

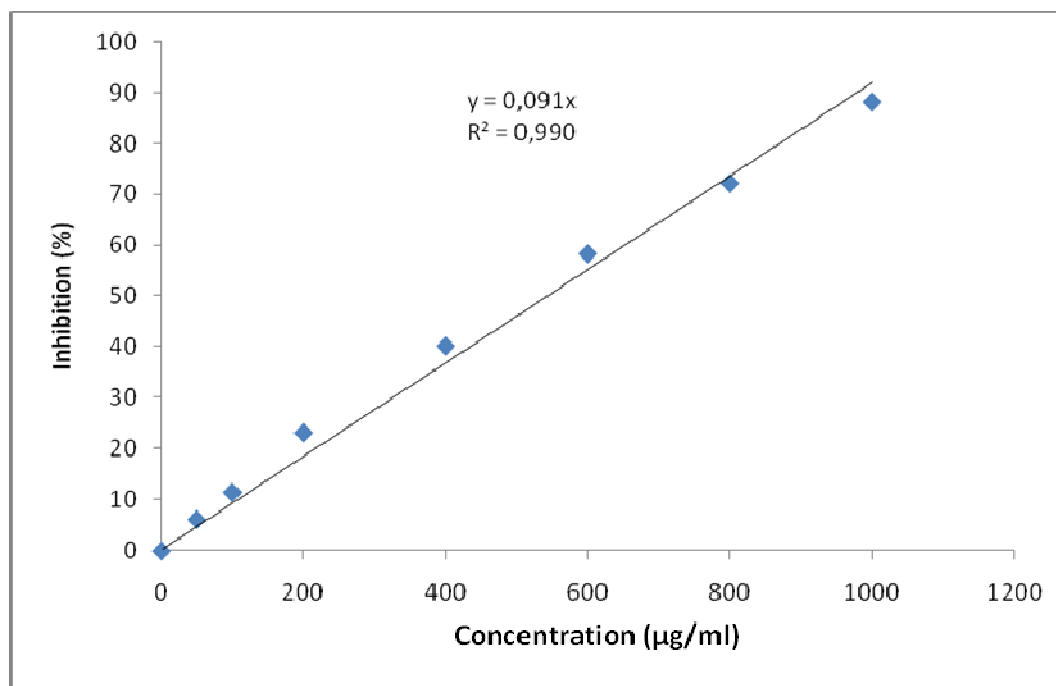


Figure 171 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (éthanol/eau : 75/35) des racines de *B. spinosum* Gouan.

Les IC_{50} , ainsi que les activités anti-radicalaires ont été déterminés pour chaque extrait, à partir des équations des régressions linéaires des graphes, Les valeurs sont représentées dans le tableau :

Tableau 38 : Valeurs des IC_{50} des extraits de *B. spinosum* Gouan.

	IC_{50} (µg/ml)	A_{AR} (1/ IC_{50})
Extrait éthanolique des parties aériennes	219.29 ± 5.41^A	0.004
Extrait éthanolique des racines	549.45 ± 5.52^C	0.001
Acide ascorbique	2.05 ± 0.04^B	0.48

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures \pm SD (Standard déviation)

Test Anova, $P < 0.05$

A, B et C (test de Tukey)

VI.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Dans la méthode de diffusion en milieu gélosé, la lecture des résultats a été effectuée en fonction de la présence ou non d'une zone d'inhibition

Pour la méthode de microdilution, la résazurine est fréquemment utilisée pour indiquer une activité biologique car le composé bleu agit comme un accepteur d'électron et est réduit en un produit rose ou incolore par des organismes vivants. Ce composé a donné de bons résultats avec les différents extraits. Les puits changent de couleur lorsqu'une croissance bactérienne se produit. Les solutions des puits de témoins négatifs ont changé de couleurs en rose, tandis que le témoin positif n'a pas changé de couleur.

VI.2.1. *A. tenuifolius* Cav.

Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des extraits d'*A. tenuifolius* et de chloramphénicol, basée sur la méthode de diffusion sur disque et de microdilution sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 39 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition en mm) des différents extraits d'*A. tenuifolius* Cav.

Espèces bactériennes	Parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i>	Racines d' <i>A. tenuifolius</i>
<i>Escherichia coli</i>	6 ^C	6 ^D
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 ^C	6 ^D
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15.33 ± 1.15 ^A	13.66 ± 0.57 ^B
<i>Bacillus cereus</i>	10.33 ± 1.52 ^B	14.33 ± 0.57 ^B
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.66 ± 0.57 ^B	23.33 ± 1.15 ^A
<i>Enterococcus faecalis</i>	9.66 ± 0.57 ^B	10.66 ± 1.15 ^C

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures ± SD (Standard déviation)

Test Anova, P<0.05

A, B et C (test de Tukey)

Tableau 40 : CMI (en mg/ml) des différents extraits d'*A. tenuifolius* Cav.

Espèces bactériennes	Parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i>	Racines d' <i>A. tenuifolius</i>
<i>Escherichia coli</i>	12.5	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.25	3.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.781	6.25
<i>Bacillus cereus</i>	0.390	0.390
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.390	0.390
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.390	0.390

Tableau 41 : CMB (en mg/ml) des différents extraits d'*A. tenuifolius* Cav.

Espèces bactériennes	Parties aériennes d' <i>A. tenuifolius</i>	Racines d' <i>A. tenuifolius</i>
<i>Escherichia coli</i>	12.5	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.25	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.781	6.25
<i>Bacillus cereus</i>	0.390	0.390
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.390	6.25
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.390	0.390

Tableau 42 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition en mm) du Chloramphénicol.

Espèces bactériennes	Zone d'inhibition en mm
<i>Escherichia coli</i>	32.66 ± 1.15 ^A
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14.66 ± 1.15 ^C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	28.66 ± 1.15 ^{AB}
<i>Bacillus cereus</i>	29.33 ± 2.30 ^{AB}
<i>Staphylococcus aureus</i>	31.33 ± 2.30 ^A
<i>Enterococcus faecalis</i>	28 ^B

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures ± SD (Standard déviation)

Test Anova, P<0.05

A, B et C (test de Tukey)

Tableau 43 : CMI (en µg/ml) du Chloramphénicol.

Espèces bactériennes	
<i>Escherichia coli</i>	0.003
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.003
<i>Bacillus cereus</i>	0.062
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.003
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.003

Tableau 44 : CMB (en µg/ml) du Chloramphénicol.

Espèces bactériennes	
<i>Escherichia coli</i>	0.003
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.250
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.003
<i>Bacillus cereus</i>	0.062
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.003
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.062

VI.2.2. *B. spinosum* Gouan

Les résultats des activités antimicrobiennes des extraits d'éthanol/eau (75/35) issus des parties aériennes et des racines de *B. spinosum* sont illustrés dans les tableaux suivants :

Tableau 45 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition en mm) des différents extraits de *B. spinosum* Gouan.

Espèces bactériennes	Parties aériennes de <i>B. spinosum</i>	Racines de <i>B. spinosum</i>
<i>Escherichia coli</i>	6 ^B	6 ^C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 ^B	6 ^C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15 ± 1.00 ^A	13.33 ± 0.57 ^B
<i>Bacillus cereus</i>	12.66 ± 1.15 ^A	11.66 ± 0.57 ^B
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.66 ± 1.15 ^A	14.33 ± 0.57 ^A
<i>Enterococcus faecalis</i>	12.33 ± 1.52 ^A	12.66 ± 0.57 ^B

Les valeurs représentent la moyenne de 03 mesures ± SD (Standard déviation)

Test Anova, P<0.05

A, B et C (test de Tukey)

Tableau 46 : CMI (en mg/ml) des différents extraits de *B. spinosum* Gouan.

Espèces bactériennes	Parties aériennes de <i>B. spinosum</i>	Racines de <i>B. spinosum</i>
<i>Escherichia coli</i>	50	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.500	12.500
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.562	0.390
<i>Bacillus cereus</i>	0.390	0.390
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.079	0.390
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.390	0.390

Tableau 47 : CMB (en mg/ml) des différents extraits de *B. spinosum* Gouan.

Espèces bactériennes	Parties aériennes de <i>B. spinosum</i>	Racines de <i>B. spinosum</i>
<i>Escherichia coli</i>	50	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	12.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.562	0.390
<i>Bacillus cereus</i>	1.562	0.390
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.097	0.390
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.390	0.390

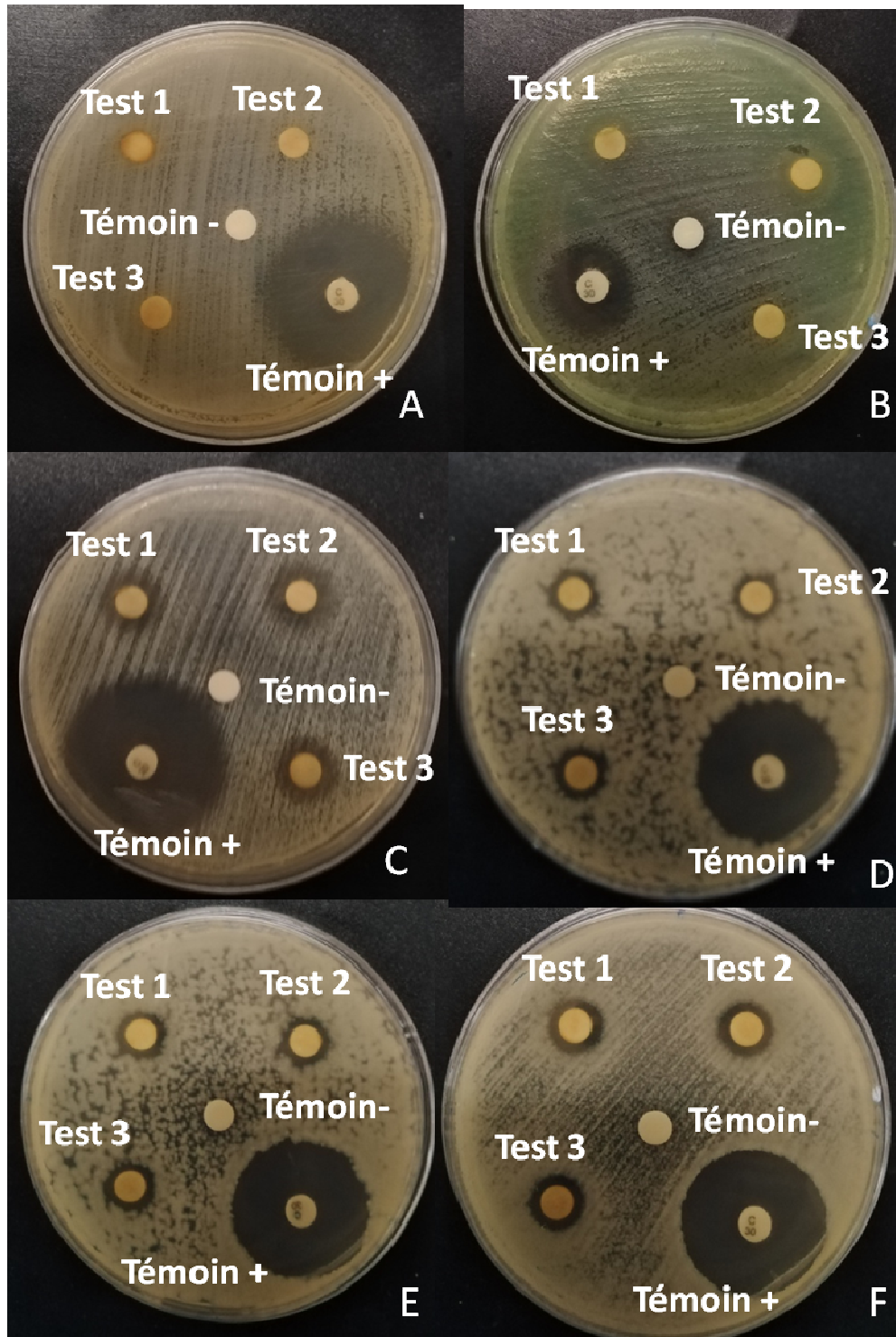


Figure 172 : Résultats du test de l'activité antibactérienne des racines de *Bupleurum spinosum* Gouan par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé (Témoign positif : Chloramphénicol, Témoign négatif : DMSO, Opération répétée trois fois pour chaque extrait : Test 1, test 2, test 3, A : *E. coli*, B : *P. aeruginosa*, C : *S. aureus*, D : *K. pneumoniae*, E : *B. cereus*, F : *E. faecalis*).

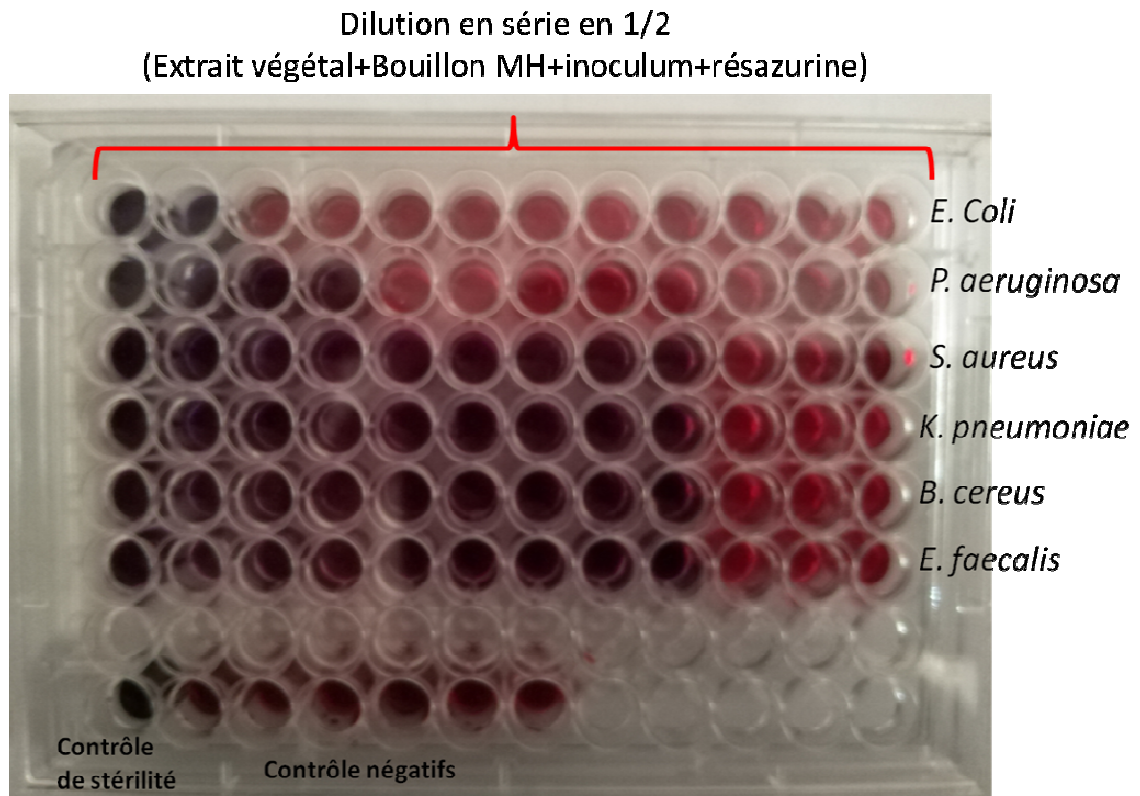


Figure 173 : Microplaque 24 h après incubation (Pour la Détermination des CMI des racines de *B. spinosum* Gouan par la méthode de microdilution). (La couleur rose indique une croissance bactérienne et bleue indique une inhibition de la croissance).

Partie VI.

Discussion

I. Enquête ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique réalisée, dans cette étude, auprès de la population berbère d'Algérie, a permis de recenser plusieurs plantes médicinales, et a révélé une multitude de résultats sur l'utilisation des plantes médicinales, les parties utilisées, les modes d'emploi, ainsi que sur les maladies traitées. Ce savoir-faire traditionnel constitue un des aspects socioculturels inspiré de la nature, de la population berbère algérienne que nous avons voulu retranscrire, garder et valoriser. Cet inventaire constitue une base de données pour rechercher les principes actifs dans les plantes médicinales algériennes.

Diversité des plantes médicinales utilisées dans les régions d'étude

L'enquête ethnobotanique réalisée a révélé l'usage de 229 espèces végétales, ce qui témoigne d'un savoir immense (diversité des plantes, des usages et des pratiques) et d'une très grande richesse spécifique de la flore utilisée par la population berbère. Ces résultats concordent avec ceux trouvés dans les études ethnobotaniques ultérieures qui montrent l'intérêt de la phytothérapie traditionnelle ainsi que la diversité de la flore médicinale en Algérie (Ould Elhadj et al., 2003 ; González-Tejero et al., 2008 ; Meddour et al., 2010 ; Boudjelal et al., 2013 ; Chermat et al., 2015 ; Benarba et al., 2015 ; Ouelbani et al., 2015).

Systématique et classement des familles de plantes médicinales utilisées

Les 229 plantes identifiées se répartissent en 82 familles botaniques (Figure 18). L'inégalité dans la répartition des espèces utilisées dans les différentes familles est liée directement à l'abondance de certaines familles dans la flore algérienne par rapport à d'autres. En effet, la répartition des espèces entre familles montre que les Asteraceae, les Lamiaceae, les Apiaceae, et les Poaceae comptent plus de 100 espèces chacune en Algérie. Viennent ensuite les autres familles avec moins d'espèces (L'état des ressources génétiques forestières mondiales, 2012). L'importance ethnopharmacologique des Asteraceae, Lamiaceae, et Apiaceae est liée d'une façon directe avec la présence de composants chimiques très intéressants dans ces familles.

La majorité des enquêtes réalisées dans le domaine des plantes médicinales (Ould Elhadj et al., 2003 ; González-Tejero et al., 2008 ; Meddour et al., 2010 ; Boudjelal et al., 2013 ; Chermat et al., 2015 ; Benarba et al., 2015 ; Ouelbani et al., 2015) montre la prédominance des Asteraceae, Lamiaceae, et des Apiaceae dans la flore médicinale algérienne. Cette homogénéité floristique relative peut être expliquée par un patrimoine culturel favorisé par des caractéristiques botaniques et phytochimiques avec des plantes facilement reconnaissables

pour leurs fleurs remarquables, les arômes intenses, et les saveurs particulières (González-Tejero et al., 2008).

La majeure partie des plantes utilisées poussent préférentiellement en milieux forestiers. Toutefois, les champs et les cultures abritent une proportion très importante de plantes médicinales. En somme, les populations locales prélèvent près de la moitié des plantes médicinales aux abords immédiats de leurs foyers.

Population interviewée

Notre étude a montré que toutes les tranches d'âge utilisent les plantes médicinales. Cependant, ce savoir faire traditionnel est menacé en restant entre les mains de personnes âgées (44 % des personnes interrogées ont plus de 50 ans).

Néanmoins, l'intérêt que porte la population d'âge inférieur à 50 ans (35 %) aux plantes médicinales permet d'optimiser la conservation future du patrimoine ethnobotanique (Figure 19).

Modes d'administration et de préparation

Les modes de préparation préconisées (infusion, décoction, macération) sont administrés par voie orale, ou en usage externe par des compresses et correspondent aussi au mode de traitement des pathologies les plus traitées qui sont la pathologie gastro-intestinale et la pathologie dermique. Ajoutons à cela, le fait que les utilisateurs cherchent toujours la méthode la plus simple pour préparer les phytomédicaments. Ces modes de préparation sont les plus préconisés dans la plupart des enquêtes ethnobotaniques déjà effectuées (Ould Elhadj et al., 2003 ; González-Tejero et al., 2008 ; Meddour et al., 2010 ; Boudjelal et al., 2013 ; Chermat et al., 2015 ; Benarba et al., 2015 ; Ouelbani et al., 2015).

Parties de plantes utilisées

Les parties de plantes utilisées diffèrent d'une espèce végétale à une autre, ceci est dû à la disponibilité des différents organes selon les saisons, et à la concentration des principes actifs responsables des activités biologiques au niveau des feuilles surtout qui sont riches en hétérosides, alcaloïdes, et huiles essentielles. Les fruits sont très riches en valeur calorique et en vitamines. Les parties aériennes sont riches en huiles essentielles. Les racines sont également riches en différents principes actifs. Ces résultats sont déjà confirmés dans d'autres enquêtes ethnobotaniques effectuées dans différentes régions en Algérie (Ould Elhadj et al.,

2003 ; González-Tejero et al., 2008 ; Meddour et al., 2010 ; Boudjelal et al., 2013 ; Chermat et al., 2015 ; Benarba et al., 2015 ; Ouelbani et al., 2015) (Figure 21).

Pathologies traitées

Cette étude démontre qu'il y'a une variation considérable dans les utilisations pour les différentes plantes, et il y'a ainsi plusieurs facteurs qui peuvent influencer l'indication, telle que la disponibilité des plantes, les caractéristiques cognitives, l'environnement et l'histoire culturelle. La pathologie digestive (troubles digestifs, maux d'estomac, etc) est la pathologie la plus traitée (28%). Ceci est raisonnable, étant donné que la plupart des troubles digestifs sont qualifiés de légers et passagers et répondent bien aux traitements par les plantes. Ces résultats sont comparables aux résultats trouvés dans d'autres enquêtes ethnobotaniques (Ould Elhadj et al., 2003 ; González-Tejero et al., 2008 ; Meddour et al., 2010 ; Boudjelal et al., 2013 ; Chermat et al., 2015 ; Benarba et al., 2015 ; Ouelbani et al., 2015) où il y'a une prédominance des pathologies digestives, dermiques et respiratoires.

Toxicité

Les utilisateurs ont signalé la toxicité de certaines plantes utilisées avec précaution, telles que : *Arisarum vulgare*, *Ecballium elaterium*, *Cerinth major*, *Peganum harmala*, *Anagyris foetida*, *Nerium oleander*, *Ruta montana*, *Aristolochia longa*, cependant leur toxicité réelle est mal connue.

II. Etude botanique

II.1. Etude morphologique

L'étude morphologique des deux espèces sélectionnées nous a permis de les identifier comme suit :

A. tenuifolius Cav.

- Plante à fleurs trimères avec des structures primaires et pollens monoaperturés : **Euangiospermes, Monocotylédones.**
- Fleurs homoïochlamydes, trimères, souvent bien développées, placentation axile : **Liliidées.**
- Plantes herbacées angustifoliées, fleurs bisexuées : **Asparagales.**
- Feuilles en rosette, longue hampe florale, fruits en capsules : **Asphodelaceae.**
- Tige florifère nue, fleurs en grappe ou en panicule, périanthe à tépales libres, 06 étamines à filets dilatés, ovaire à 03 loges biovulés, style à stigmate trilobé, capsule loculicide, graine triquètre et noirâtre : ***Asphodelus.***
- Plante annuelle, feuilles n'atteignant pas 20 cm de long, scapes scabres à la base, fleurs rosées, pédoncules fructifères dressés, articulés sous le milieu : ***Asphodelus tenuifolius* Cav.**

B. spinosum Gouan

- Plante à fleurs pentamères avec des structures secondaires, et pollens triaperturés : **Euangiospermes, Eudicotylédones.**
- Fleurs, cycliques, gamopétales, hétérochlamyde, haplostémones, souvent pseudanthiales : **Astéridées supérieurs épigynes.**
- Ombelles, fleurs épigynes, dialypétales, stylopodes : **Apiales.**
- Canaux sécréteurs résinifères, Schizocarpes avec deux méricarpes : **Apiaceae.**
- Plante arborescente, feuilles entières et glabres : ***Bupleurum.***
- Buisson hémisphérique, à tiges ligneuses, et fortement épineuses, feuilles lancéolées, ombelles peu florifères : ***Bupleurum spinosum* Gouan.**

II.2. Etude histo-natomique et étude des poudres

A. tenuifolius Cav.

La feuille d' *A tenuifolius Cav.* est cylindrique. En dehors de cette propriété, la racine, la tige ainsi que la feuille ne présentent pas de particularités au niveau de leur anatomie par rapport à celle des monocotylédones.

B. Spinosum Gouan

Les coupes histologiques de la racine et de la tige montrent des structures secondaires familières et la structure anatomique est de type classique de dicotylédones. Nous notons cependant quelques particularités :

- Une tige vaguement polygonale, à colonnes de collenchyme angulaire.
- Un mesophylle bifacial avec interposition d'un parenchyme à méats entre les deux couches de chlorenchyme et présence d'un collenchyme dans les nervures au niveau des feuilles.
- Présence de canaux sécréteurs.

II.3. Germination des graines

A. tenuifolius Cav.

La germination des graines d'*A. tenuifolius Cav.* était rapide et n'exigeait pas de conditions particulières dans l'ensemble. Cependant une imbibition à l'eau distillée et une désinfection à l'eau de javel étaient nécessaires pour réhydrater les graines, et les décontaminer.

B. Spinosum Gouan

Il a été rapporté dans les travaux de Yu (2019) que la germination des graines de différentes espèces de *Bupleurum* était difficile, ce qui limite considérablement la culture à grande échelle. Cette difficulté de germination pourrait être attribuée aux inhibiteurs de germination présents dans l'enveloppe de la graine (résistance mécanique des téguments qui leur confèrent une imperméabilité à l'eau). Par conséquent, un processus de stratification froide était nécessaire. Il est également important de désinfecter les graines parce qu'elles sont facilement contaminées.

III. Analyse du sol

Les métabolites secondaires de plantes constituent une partie importante du système de défense des plantes contre les attaques pathogènes et les stress environnementaux. Divers facteurs génétiques, ontogéniques, morphologiques et environnementaux peuvent influencer leur synthèse. Selon la littérature, l'accumulation des métabolites secondaires dépend fortement d'une variété de facteurs environnementaux tels que la lumière, la température, l'eau du sol, la fertilité et la salinité du sol. Pour la plupart des plantes, un changement dans un facteur individuel peut modifier le contenu des métabolites même si les autres facteurs restent constants (Li, 2018).

III.1. Sol prélevé à Oued Zergoun

La valeur de la conductivité électrique était de 0.120 microsiemens/cm, donc le sol est non salin.

Le pH de notre échantillon de sol était de 6.8, ce qui correspond à un milieu neutre.

Le sol est pauvre en carbone car il contenait que 0.69 %, ce qui donne une valeur faible en matières organiques, tant que l'azote n'était pas détecté.

La détermination de la classe texturale de notre échantillon a été faite en utilisant le diagramme triangulaire texturale du sol, sa texture a été définie par le point de croisement des différents pourcentages des particules fines déterminées par analyse granulométrique qui se trouve dans la zone de sol sableux avec des proportions en argiles, limons et sables respectivement de 6.92 %, 1.84 % et 91.24 %. Ce sol est sec, pauvre en substances nutritives et très drainant.

La physiologie, la morphologie (feuilles étroites, stomates enfoncés dans l'épiderme, etc) ainsi que la composition chimique (richesses en composés phénoliques) d'*A. tenuifolius* permettent son adaptation exemplaire avec des conditions environnementales très défavorable (sol sableux, sec, pauvre en éléments nutritifs, etc). Cette adaptation peut indiquer un potentiel très intéressant de cette plante comme source de différents composés chimiques, car les facteurs de stress hydrique ou de salinité favorisent la production de flavonoïdes par exemple.

III.2. Sol prélevé au col de Tirourda

La conductivité électrique de notre échantillon était de 0.25 microsiemens/cm, donc le sol est non salin et acceptable pour la culture de plantes sensibles aux sels.

Le pH de notre échantillon de sol était de 6.8, ce qui correspond à un milieu neutre et bien équilibré car la plupart des plantes s'accommodent d'un pH autour de la neutralité (de 6 à 7.5).

Le sol était riche en carbone organique, matières organiques et en azote.

Le rapport C/N du sol est un indicateur sur le bon fonctionnement du sol. Les résultats de l'analyse montrent que la valeur C/N est de 8, ce qui signifie que la matière organique évolue d'une manière satisfaisante dans le sol.

Le triangle de texture et les résultats de l'analyse granulométrique indiquent que le sol a une texture limon-argileux avec des proportions en argiles, limons et sables respectivement de 36.75 %, 31.43 % et 31.81 %. Ce sol a une texture équilibrée, caractérisée par une capacité de rétention en eau relativement élevée due à la présence d'argile. De plus, la présence de sable permet une bonne perméabilité et une aération suffisante.

Cette étude du sol nous a permis de fournir quelques données sur le spectre écologique de *B. spinosum* qui est un buisson xérophytique caractéristique des chaînes montagneuses de l'Europe méridionale et de l'Afrique du nord. Selon notre étude, la plante n'est pas exigeante vis-à-vis du sol. Cependant, un sol équilibré, riche en nutriments, non salin, et non calcaire sont nécessaires pour sa croissance. Aucune étude n'a été faite sur cette espèce qui pousse en Algérie de point de vue chimique pour pouvoir comparer nos résultats et tirer des corrélations qui pourraient exister entre les facteurs abiotiques et sa composition chimique.

Les plantes qui subissent un stress salin semblent favoriser la synthèse de composés fortement réduits comme les isoprénoïdes, les phénols, les alcaloïdes et les saponines (Haghighi et al., 2012), cela signifie qu'il pourrait y'avoir une forte relation entre l'environnement et la physiologie de *Bupleurum* mais nécessite plus d'exploration pour qu'elle soit élucidée.

IV. Etude chimique

IV. I. Screening phytochimique

***Asphodelus tenuifolius* Cav.**

Le criblage phytochimique d'*A. tenuifolius* a révélé la présence d'antraquinones, un groupe de substances chimiques très importantes, au niveau des parties aériennes et des racines, ce qui correspond aux caractères communs des plantes appartenant à la famille des Asphodelaceae (Safdar et al., 2014).

Les autres tests effectués ont révélé aussi avec des réactions fortement positives la présence de composés polyphénoliques (flavonoïdes et tanins), de composés triterpéniques, et des stérols qui possèdent des activités biologiques intéressantes. Cependant, les réactions caractérisant les alcaloïdes et les saponines étaient faiblement positives. Les hétérosides cardiotoniques et les coumarines sont absents. L'absence totale des hétérosides cardiotoniques diminue fortement les risques toxicologiques liés à l'usage d'*A. tenuifolius*, ce qui explique son utilisation comme condiment et comme plante alimentaire et médicinale au sud algérien. Tous ces résultats concordent avec les données de la littérature (Malmir et al., 2018).

A. tenuifolius de part la présence de ses nombreuses familles chimiques révèle des activités pharmacologiques potentielles. La plante est connue et utilisée pour son effet sur le système digestif et doit son effet probablement aux anthraquinones présentes dans toute la plante (Bruneton, 1999, 2016). On reconnaît également le rôle antioxydant et anti-inflammatoire des flavonoïdes, les tanins possèdent aussi une forte activité antioxydante et antibactérienne (Bruneton, 1999, 2016). La présence de ces deux classes chimiques dans les différentes parties de la plante expliquerait l'activité anti-oxydante de certains extraits de la plante et son utilisation comme anti-inflammatoire et contre certaines infections dans la médecine traditionnelle algérienne.

***B. spinosum* Gouan**

Le screening phytochimique effectué sur les parties aériennes et racines de *B. spinosum* a révélé la présence de saponines, de flavonoïdes, de stérols et triterpène, et de tanins. Les tests de recherche d'alcaloïdes, de coumarines, et d'hétérosides cardiotoniques ont été négatifs sur la plante. Ces résultats corroborent ceux mentionnés par d'autres chercheurs qui ont déjà travaillé sur d'autres espèces du genre *Bupleurum* (Pan, 2006).

L'indice de mousse trop élevé révèle la présence d'une teneur élevée de saponines au niveau des parties aériennes et des racines de *Bupleurum*, ces substances constituent les composants majoritaires présents dans le genre. Peu d'études ont été effectuées pour caractériser la composition chimique et les activités biologiques de *B. spinosum*, contrairement aux autres espèces du genre. La seule étude effectuée sur l'espèce a révélé la présence de 5 saponines de type oléane (Barrero et al., 2000). La richesse de cette espèce en substances chimiques diverses peut être à l'origine de plusieurs utilisations thérapeutiques potentielles.

IV.2. Dosage des principales classes chimiques

A. tenuifolius Cav.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 22, le criblage phytochimique quantitatif a donné des teneurs élevées en composés phénoliques qui varient largement dans les extraits bruts éthanoliques (Ethanol/eau : 75/35) des parties aériennes et des racines de la plante, donc la plante est riche en phénols. Les parties aériennes possèdent les teneurs les plus élevées par rapport aux racines.

L'analyse de la variance (ANOVA) a montré une différence significative de la teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes totaux, et en tanins dans les extraits de chaque partie d'*A. tenuifolius* ($P < 0.05$).

Les teneurs en polyphénols totaux de la présente étude sont plus au moins en accord avec celles qui sont rapportées dans les travaux de Laouini et al (2015) ($183.7 \pm 3.5 \mu\text{g EAG/mg de MS}$), $128.5 \pm 2.1 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ et $109.7 \pm 1.5 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ des extraits méthanoliques, éthanoliques et d'éther de pétrole des parties aériennes d'*A. tenuifolius*, respectivement, et supérieures à celles retrouvées dans l'extrait méthanolique (50 %) d'*A. tenuifolius* ($15.74 \mu\text{g EAG/mg de MS}$) (Kalim et al., 2010). Cependant, les teneurs rapportées sur d'autres espèces du même genre, dans les travaux d'Adawi et al (2017) ($17.90 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ et $13.02 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ dans l'extrait méthanolique des racines d'*A. lutea* et d'*A. microcarpus*, respectivement), les travaux de Di Petrillo et al (2016) ($15.31 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ dans l'extrait méthanolique des racines d'*A. microcarpus*) et les travaux de Unal et al (2016) ($48.8 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ dans l'extrait méthanolique d'*A. aestivus*) sont largement inférieures à celles de la présente étude.

Les teneurs en flavonoïdes de la présente étude sont nettement supérieures à celles rapportées par Kalim et al (2010) ($11.98 \mu\text{g EQ/mg de MS}$ dans l'extrait méthanolique (50 %) d'*A. tenuifolius*), Di petrillo et al (2016) ($3.94 \mu\text{g EQ/mg de MS}$ dans l'extrait méthanolique des

racines d'*A. microcarpus*), et [Adawi \(2017\)](#) (14.69 µg EQ/mg de MS et 7.63 µg EQ/mg de MS dans l'extrait méthanolique des racines d'*A. microcarpus* et *A. lutea*, respectivement).

Les résultats du dosage des tanins de la présente étude sont également supérieurs à ceux mentionnés dans les travaux de [Laouini et al \(2016\)](#) (59.8 µg EC/mg de MS, 49.2 µg EC/mg de MS et 41.4 µg EC/mg de MS des extraits méthanoliques, éthanoliques et d'ether de pétrole des parties aériennes d'*A. tenuifolius*, respectivement).

***B. spinosum* Gouan**

Les résultats (Tableau 23) montrent que les teneurs en composés phénoliques varient considérablement entre les deux parties de la plante. En effet, l'analyse statistique des teneurs des différents composés a montré une différence significative dans les extraits de chaque partie de *B. spinosum* (P<0.05).

L'extrait (Ethanol/Eau 75/35) des parties aériennes renferme des taux plus élevés en phénols totaux et en flavonoïdes, et un taux plus bas en tanins (145.61 µg EA/mg de MS, 9.35 µg EC/mg de MS et 55.26 µg EQ/mg de MS, respectivement), par rapport à l'extrait racinaire, où les teneurs sont de l'ordre de 128.50 µg EA/mg de MS, 5.79 µg EC/mg de MS et 58.53 µg EQ/mg de MS, respectivement).

Aucun résultat du dosage des composés phénoliques n'a été rapporté par d'autres auteurs sur *B. spinosum* à notre connaissance pour pouvoir comparer nos résultats.

En comparant à d'autres espèces, les taux obtenus en polyphénols totaux dans les parties aériennes de *B. spinosum* de la présente étude sont supérieurs à ceux déterminés par [Prieto et al \(2012\)](#) qui ont obtenu des concentrations de 22.1 µg EAG/mg de MS et de 20.7 µg EAG/mg de MS pour l'extrait éthanolique (70 %) des parties aériennes de *B. rigidum* et de *B. frutiscens*, respectivement, par [Kim et al \(2014\)](#) qui ont dosé les polyphénols dans *B. latissimum* (18.6 µg EAG/mg de MS), *B. falcatum* "Mishima" (9.4 µg EAG/mg de MS) et *B. falcatum* L. (14.6 µg EAG/mg de MS) et par [Kars et al \(2012\)](#) qui montrent des teneurs en polyphénols totaux de l'ordre de 34.68 µg EAG/mg de MS, 61.48 µg EAG/mg de MS, 34.48 µg EAG/mg de MS, 31.48 µg EAG/mg de MS et 33.71 µg EAG/mg de MS dans l'extrait éthanolique (70%) des racines de *B. sulphureum*, *B. lycaonicum*, *B. turcium*, *B. heldrechii* et *B. pauciradiatum*, respectivement.

Des études sur le dosage des flavonoïdes de quelques espèces de *Bupleurum*, dont le dosage a été fait par HPLC quantitative, retrouvent des taux de l'ordre de 47.46 µg EQ/mg de MS,

39.16 ug EQ/mg de MS et 11.53 µg EQ/mg de MS de flavonoïdes totaux dans les extraits méthanoliques (80 %) des parties aériennes de *B. flavum*, *B. baldense* et *B. affine* (Gevrenova et al., 2015) et une comparaison avec la présente étude s'avère inutile vue la différence dans la méthode de dosage.

Il n'y a pas de résultats dans la littérature concernant le dosage des tanins dans les espèces de *Bupleurum*, à notre connaissance pour pouvoir comparer nos résultats.

La variation des teneurs en composés phénoliques des espèces étudiées est l'objet de facteurs différents.

La comparaison des valeurs obtenues entre les parties aériennes et les racines, de la même espèce, a montré que la teneur en ces composés était dépendante des organes. Les extraits éthanoliques des parties aériennes ont été caractérisés par des teneurs plus élevées par rapport aux extraits des racines. Les contenus phénoliques sont aussi influencés par le biotope, et les conditions bioclimatiques, en effet, les espèces étudiées dans le présent travail et par d'autres auteurs n'ont pas été prélevées dans des biotopes ou des conditions bioclimatiques similaires. Des auteurs ont déjà démontré que ces variations seraient en relation avec la salinité, la luminosité, et la disponibilité en nutriments et minéraux, etc. En effet, le stress abiotique présent dans les zones arides pourrait améliorer la synthèse des composés phénoliques en réponse au stress oxydatif généré par la formation d'espèces réactives de l'oxygène dans ces environnements hostiles. Plusieurs études ont également montré que les méthodes d'extraction, la nature des solvants, notamment la polarité, ont des capacités d'extraction significativement différentes des composés phénoliques chez les plantes (Ksouri et al., 2008).

Toutefois, les résultats du dosage des composés phénoliques n'indiquent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols, puisque malgré sa grande sensibilité, les méthodes réalisées dans la présente étude peuvent présenter des problèmes d'interférence avec d'autres composés.

V. Extraction, Isolement, purification et détermination structurale de métabolites secondaires

A. tenuifolius Cav.

Cette étude nous a permis d'isoler d'*A. tenuifolius* les composés suivants :

- une phytostérole (β -Sitostérol), un flavonoïde (Lutéoline), déjà identifiés dans *A. tenuifolius* dans des travaux antérieurs (Faidi et al., 20014 ; Safder et al., 2009).
- des corps gras dont une oxylipine dont la structure est l'acide (9R, 10R, 7E)-6,9,10-trihydroxyoctadec-7-énoïque, qui a été isolée dans *A. tenuifloius* pour la première fois. Cette structure chimique a déjà été mise en évidence dans *Dracontium loretense* Engl. Aracée (Benavides et al., 2009). Les oxylipines constituent une famille de produits naturels oxygénés, répandus chez les plantes, les animaux et les champignons. Ils sont dérivés d'acides gras polyinsaturés par des enzymes (lipoxygénases, cycloogénases, époxygénase du cytochrome P450). Ils ont une signification physiologique et sont impliqués dans le contrôle de l'ontogénèse, des processus de reproduction et de la résistance à divers agents pathogènes et autres ravageurs (Howe et al., 2002).
- d'autres corps gras dont l'acide phosphatidique et le 1-Glycérol 9-nonadécénoate.

B. spinosum Gouan

Les caractères de distribution et de structure des saponines dans les plantes sont très significatifs pour la classification et la chimiotaxonomie (Yang et Li, 1996). À ce jour, il existe plus de 100 saikosaponines isolées du genre *Bupleurum*, dont cinq sont obtenues de *B. spinosum* (Barrero et al., 2000). Dans cette étude, huit saponines triterpéniques (BS1-BS8) ont été isolées et caractérisées à partir des racines de *B. spinosum*, dont quatre non précédemment décrites (BS1-BS4), la népasaikosaponine K (BS5), le chikosaikoside II (BS6), la saikosaponine v-2 (BS7) et la saikosaponine v-1 (BS8) ont été signalés auparavant exclusivement dans le genre *Bupleurum*. Ainsi, la présence des composés BS5 à BS8 indique la relation chimiotaxonomique étroite entre *B. spinosum* et d'autres espèces de ce genre.

Toutes les saponines sont des composés monodesmosidiques, et la séquence des sucres en C-3 GlcII-(1→6)-[GlcIII-(1→2)]-[Rha-(1→4)]-Glc a été trouvée dans trois nouveaux composés (BS1, BS2, BS3) différents par leurs aglycones. Selon nos connaissances, une telle séquence n'a jamais été rapportée auparavant, alors que la séquence GlcII (1→6)- [Rha-(1→4)]-Glc, commune à cette famille, a été trouvée dans le nouveau composé (BS4) et deux composés

connus (**BS5** et **BS6**). Les composés **BS1**, **BS2**, **BS3**, et **BS4** partagent le même squelette de type oléanane pour l'aglycone, la principale différence étant la substitution en C-23, qui est une fonction hydroxyle en **BS1**, une fonction aldéhyde en **BS2** et une fonction acide en **BS3** et **BS4**. Les composés **BS2**, **BS3** et **BS4** sont les premiers exemples trouvés dans les saikosaponines portant un groupe carbonyle en C-23, et peuvent être considérés comme des marqueurs chimiques pour la taxonomie de *B. spinosum*, ceux avec un groupe hydroxyle en C-23 étaient courants ([Barrero et al., 2000](#); [Sánchez-Contreras et al., 2002](#)).

En fin, les saponines isolées de *B. spinosum* sont caractérisées par différents aglycones liés à la 23-hydroxy-longispinogénine (**BS1- BS5**), la saikogénine F (**BS6**) et l'oléanan-11,13 (18) - diène (**BS7** et **BS8**), et différents fragments de sucre liés à C-3 de l'aglycone, contenant du glucose et du rhamnose (**BS1- BS6**), et du fucose et du glucose (**BS7- BS8**). Par conséquent, les résultats de cette étude ont corroboré ceux obtenus par [Barrero \(2000\)](#), enrichissant la diversité phytochimique de *B. spinosum* et renforçant les études selon lesquelles les saikosaponines sont les principaux constituants du genre *Bupleurum*, dans lequel le type oléanane prédomine.

Plusieurs travaux ont prouvé que ces saikosaponines isolées du genre *Bupleurum*, possèdent divers effets pharmacologiques anti-inflammatoires, immunorégulateurs, anti-cancéreux, et anti-oxydants ([Li et al., 2018](#)). Parmi les composés isolés lors de notre recherche, **Chikosaikoside II** a déjà été étudié et a montré une activité antivirale inhibitrice et une sélectivité plus puissante que le contrôle positif, la Ribavirine ([Fang et al., 2017](#)).

Caractéristiques des produits isolés d'*Asphodelus tenuifolius* Cav.

AT2

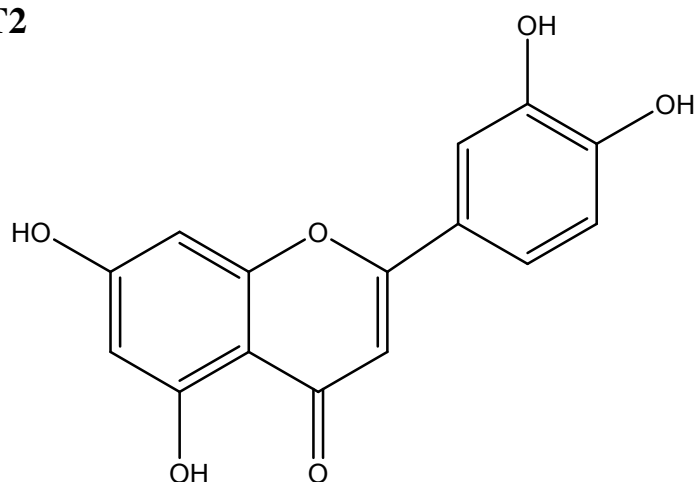
Poudre jaune

Formule brute: C₁₅O₆H₁₀

ESI-MS: *m/z* 595.0840 [2M+Na]⁺ (calc. pour (C₁₅O₆H₁₀)₂Na)

H¹RMN: (méthanol, 600 MHz)

C¹³RMN: (méthanol-d₄, 150 MHz)



Lutéoline

AT3

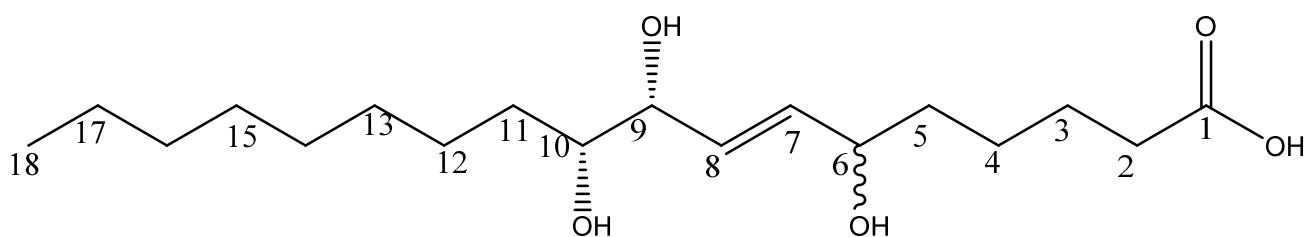
Poudre jaune

Formule brute: C₁₈H₃₄O₅

ESI-MS: *m/z* 353.2305 [M+Na]⁺ (calc. pour C₁₈H₃₄O₅Na)

H¹RMN: (méthanol, 600 MHz)

C¹³RMN: (méthanol-d₄, 150 MHz)



Acide (9R, 10R, 7E)-6,9,10-trihydroxyoctadec-7-enoïque

AT6

Poudre jaune

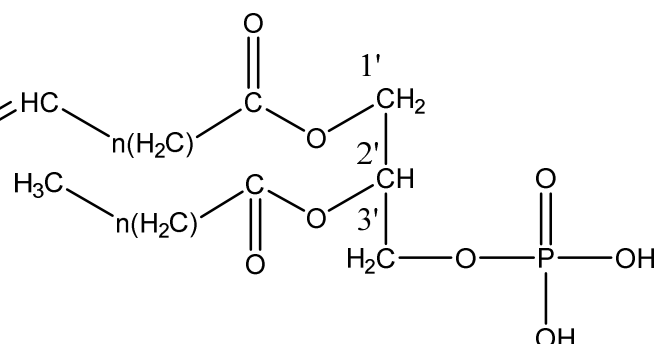
Formule brute: $C_{36}H_{69}O_8PNa$

ESI-MS: m/z 683.4717 $[M+Na]^+$ (calc. pour

$C_{36}H_{69}O_8PNa$)

H^1 RMN: (méthanol, 600 MHz)

C^{13} RMN: (méthanol- d_4 , 150 MHz)



Acide phosphatidique

AT7

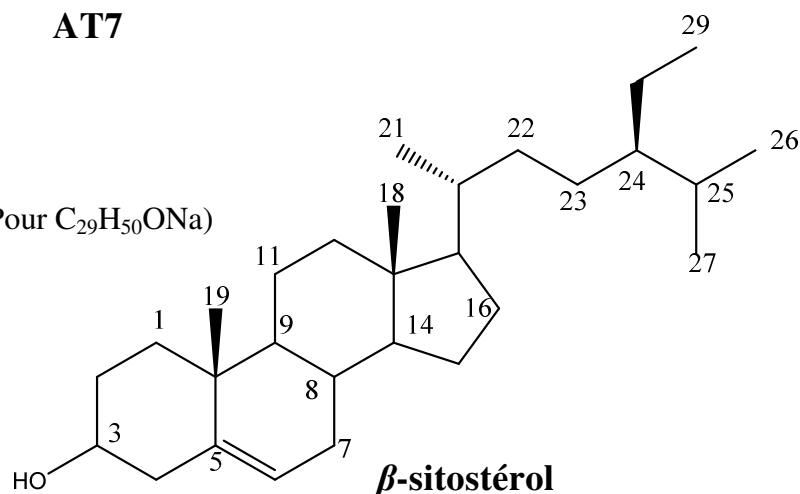
Poudre jaune

Formule brute : $C_{29}H_{50}O$

ESI-MS : m/z 413.3673 $[M-H^+]$ (calc. Pour $C_{29}H_{50}ONa$)

H^1 RMN : (méthanol, 600 MHz)

C^{13} RMN : (méthanol- d_4 , 150 MHz)



AT8

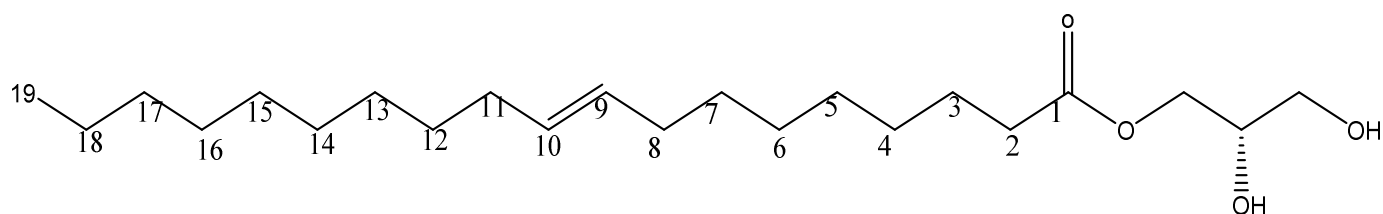
Poudre jaune

Formule brute: $C_{22}H_{42}O_4$

ESI-MS: m/z 393.2610 $[M+Na]^+$ (calc. pour $C_{22}H_{44}O_4Na$)

H^1 RMN: (méthanol, 600 MHz)

C^{13} RMN: (méthanol- d_4 , 150 MHz)



1-Glycérol 9-nonadécénoate

Caractéristiques des composés isolés de *Bupleurum spinosum* Gouan

BS1

Poudre blanche, amorphe.

Formule brute: $C_{54}H_{90}O_{23}$

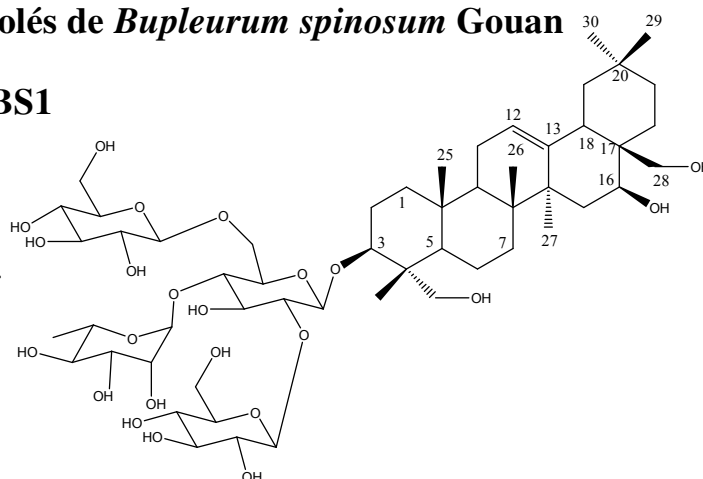
ESI-MS: m/z 1129.5781 $[M+Na]^+$ (calc. pour

$C_{54}H_{90}O_{23}Na$)

1H RMN: (pyridine - d_5 , 600 MHz)

^{13}C RMN: (pyridine - d_5 , 150 MHz)

3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,23,28-tétrahydroxyléan-12-ene



BS2

Poudre blanche, amorphe.

Formule brute: $C_{54}H_{88}O_{23}$

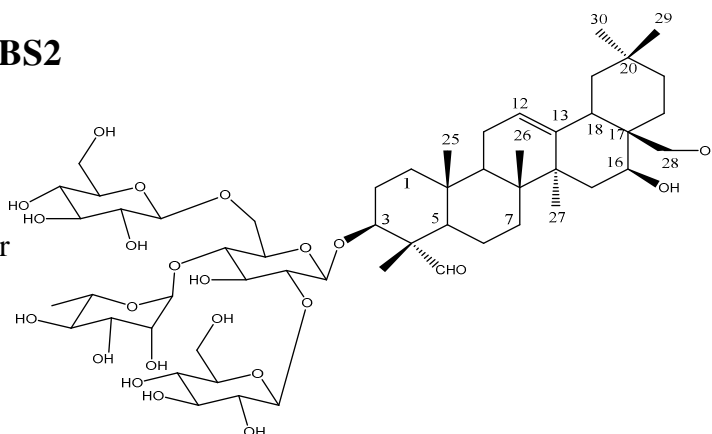
ESI-MS: m/z 1127.5588 $[M+Na]^+$ (calc. pour

$C_{54}H_{88}O_{23}Na$)

1H RMN: (pyridine - d_5 , 600 MHz)

^{13}C RMN: (pyridine - d_5 , 150 MHz)

3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-23-oxooléan-12-ene



BS3

Poudre blanche, amorphe.

Formule brute: $C_{54}H_{88}O_{24}$

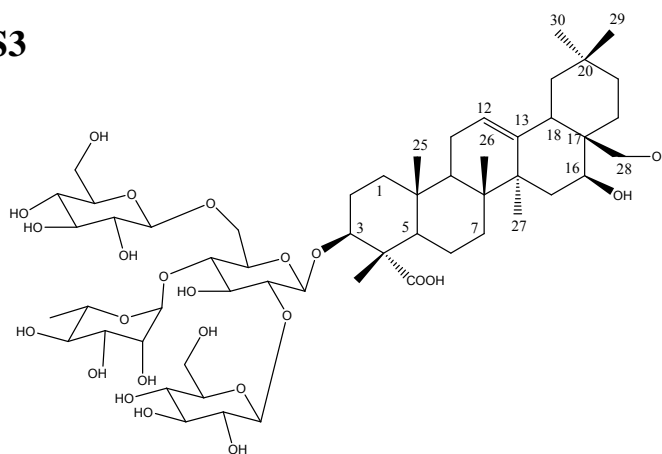
ESI-MS: m/z 1143.5570 $[M+Na]^+$ (calc. pour

$C_{54}H_{88}O_{24}Na$)

1H RMN: (pyridine - d_5 , 600 MHz)

^{13}C RMN: (pyridine - d_5 , 150 MHz)

Acide 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28 trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque



BS4

Poudre blanche, amorphe.

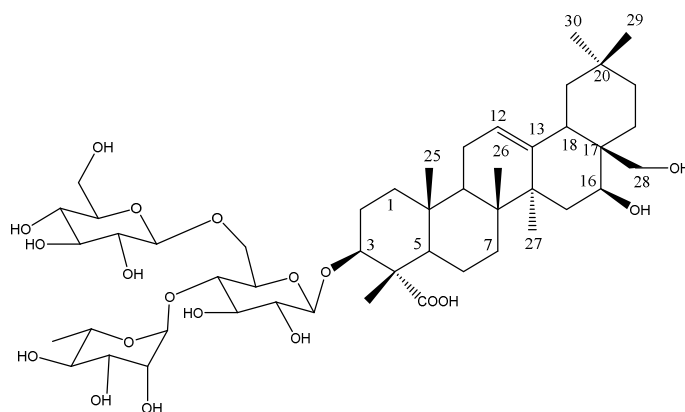
Formule brute: C₄₈H₇₈O₁₉

ESI-MS: *m/z* 981.5043 [M+Na]⁺ (calc. pour

C₄₈H₇₈O₁₉Na)

H¹RMN: (pyridine -d₅, 600 MHz)

C¹³RMN: (pyridine -d₅, 150 MHz)



Acide 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,28-trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque

BS5

Poudre blanche, amorphe.

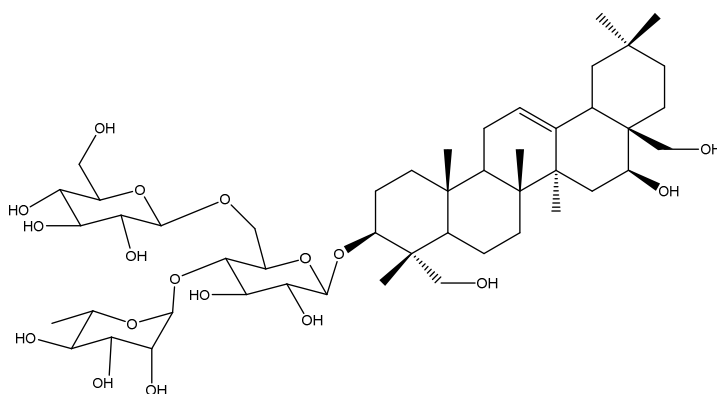
Formule brute: C₄₈H₇₈O₁₈

ESI-MS: *m/z* 967.5256 [M+Na]⁺ (calc. pour

C₄₈H₇₈O₁₉Na)

H¹RMN: (pyridine -d₅, 600 MHz)

C¹³RMN: (pyridine -d₅, 150 MHz)



Nepesaikosaponin K

BS6

Poudre blanche, amorphe.

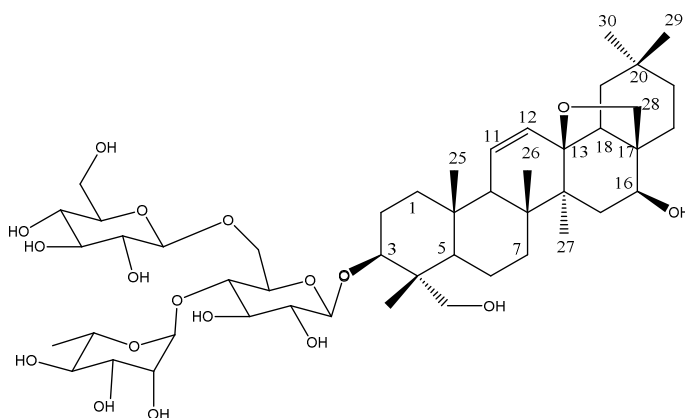
Formule brute : C₄₈H₇₈O₁₈

ESI-MS : *m/z* 965.5076 [M+Na]⁺ (calc. Pour

C₄₈H₇₈O₁₈Na)

H¹RMN : (pyridine -d₅, 600 MHz)

C¹³RMN : (pyridine -d₅, 150 MHz)



Chikosaikoside II

BS7

Poudre blanche, amorphe.

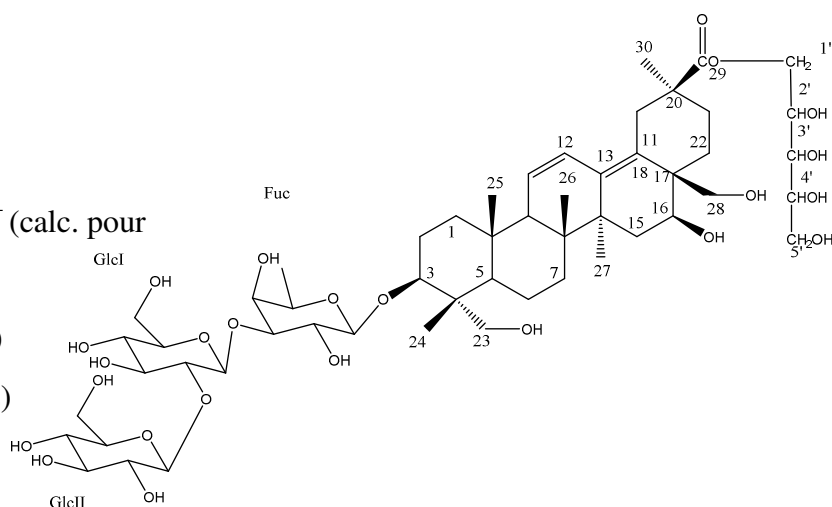
Formule brute: $C_{53}H_{86}O_{24}$

ESI-MS: m/z 1129.5410 $[M+Na]^+$ (calc. pour

$C_{53}H_{86}O_{24}Na$)

H^1 RMN: (pyridine - d_5 , 600 MHz)

C^{13} RMN: (pyridine - d_5 , 150 MHz)



Saikosaponine v-1

BS8

Poudre blanche, amorphe.

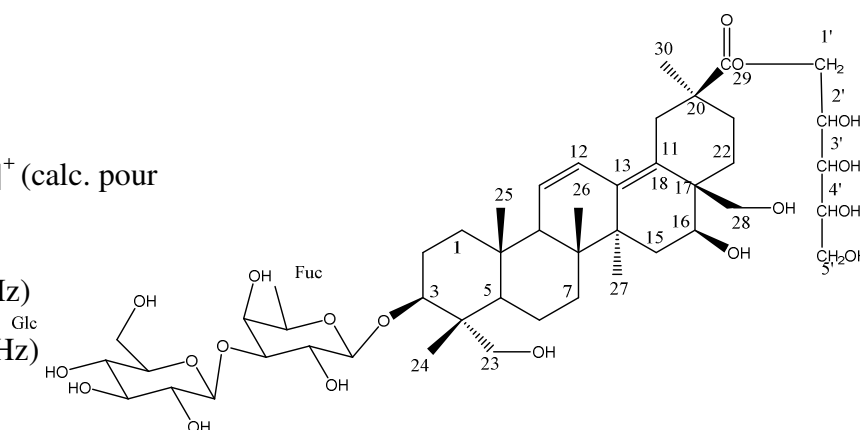
Formule brute: $C_{47}H_{76}O_{19}$

ESI-MS: m/z 967.4886 $[M+Na]^+$ (calc. pour

$C_{47}H_{76}O_{19}Na$)

H^1 RMN: (pyridine - d_5 , 600 MHz)

C^{13} RMN: (pyridine - d_5 , 150 MHz)



Saikosaponine v-2

VI. Etude biologique

VI.1. Activité anti-oxydante

L'IC₅₀ de l'acide ascorbique utilisé comme témoin positif est de l'ordre de 2.05 µg/ml, elle est inférieure à celle des extraits d'*A. tenuifolius* et *B. spinosum*. Donc, il présente une activité anti-radicalaire très élevée. L'acide ascorbique est un réducteur très puissant et possède de ce fait un pouvoir antioxydant, qui est au centre de son activité biologique.

Compte tenu de la variabilité des méthodes suivies pour évaluer l'activité anti-oxydante des différents extraits des espèces d'*Asphodelus* et de *Bupelurum*, et pour pouvoir interpréter et comparer nos résultats, nous avons effectué une recherche bibliographique et nous avons retenus seulement les études ayant suivi la même méthodologie et ayant obtenus des valeurs d'IC₅₀ du contrôle positif proches de la valeur retrouvée dans notre travail.

A. tenuifolius Cav.

Les parties aériennes et les racines possèdent des activités anti-oxydantes différentes (IC₅₀ = 51.22 µg/ml et 88.33 µg/ml pour les parties aériennes et les racines respectivement). Ceci est confirmé par le test ANOVA (P<0.05). Le test de Tukey qui permet d'effectuer une comparaison multiple a montré que toutes les valeurs s'écartent les unes des autres.

Les polyphénols contenus dans nos extraits sont probablement responsables de l'activité anti-oxydante. Il est à noter qu'il existe même dans les racines des polyphénols avec une activité non négligeable. Par ailleurs, il est bien établi que l'activité anti-oxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols.

Une étude menée par [Kalim et al \(2010\)](#) sur la même espèce de plante en Inde a montré une IC₅₀ de 2006 µg/ml de l'extrait méthanolique des racines. Cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée dans la présente étude, et donc a une activité anti-radicalaire inférieur. D'autres études faites sur d'autres espèces d'*Asphodelus*, ont démontré une activité anti-radicalaire inférieure à celle de la présente étude, comme celle faite par [Di-petrillo et al \(2016\)](#) où l'IC₅₀ était de 670 µg/ml, 360 µg/ml et 579 µg/ml pour les extraits aqueux, éthanolique et méthanoliques des racines d'*A. microcarpus*, respectivement, et celle d'[Adawi \(2017\)](#) où l'IC₅₀ était de 300 µg/ml et 540 µg/ml pour les extraits méthanoliques des racines d'*A. microcarpus* et *A. lutea* respectivement.

Concernant les parties aériennes, l'activité anti-radicalaire obtenue, dans la présente étude, est supérieure à celles obtenues dans les autres études avec d'autres espèces. [Di Petrilo et al](#)

(2016) ont obtenu les valeurs d' IC_{50} de 134.75 $\mu\text{g/ml}$, et 55.9 $\mu\text{g/ml}$ et 140.85 $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits aqueux, éthanolique et méthanolique des feuilles d'*A. microcarpus*, respectivement. Peksel et al (2012 et 2014) ont obtenu les valeurs d' IC_{50} de 4850 $\mu\text{g/ml}$, 9540 $\mu\text{g/ml}$, 160 $\mu\text{g/ml}$ et 500 $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits aqueux, éthanoliques, méthanolique et d'acétone des feuilles d'*A. aestivus*, respectivement.

***B. spinosum* Gouan**

Les extraits éthanoliques (Ethanol/eau : 75/35) des différentes parties de la plante ont provoqué des décolorations différentes de la solution DPPH (Test ANOVA, $P < 0.05$, Test de Tukey). Ceci prouve leur capacité anti-oxydante. L'extrait des parties aériennes possède une activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical libre DPPH importante comparée à celle obtenue par les racines ($IC_{50} = 219.29 \mu\text{g/ml}$ et 549.45 $\mu\text{g/ml}$ respectivement). L'activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique est significativement supérieure à celle obtenue par la plante.

Aucun résultat sur le pouvoir anti-radicalaire des extraits de *B. spinosum* n'a été rapporté, par d'autres auteurs à notre connaissance pour pouvoir comparer nos résultats.

Une étude faite par Prieto et al (2012) sur différents extraits des parties aériennes de *B. rigidum* et *B. frutescens* a donné des valeurs de IC_{50} qui varient entre 80 $\mu\text{g/ml}$ et 3820 $\mu\text{g/ml}$. Les extraits de *B. rigidum* : n-hexane ($IC_{50}=2370 \mu\text{g/ml}$), l'extrait éthanolique à 45 % ($IC_{50}=2220 \mu\text{g/ml}$) et à 70% ($IC_{50}=3820 \mu\text{g/ml}$), et les extraits de *B. frutescens* : n-hexane ($IC_{50}=1700 \mu\text{g/ml}$), l'extrait méthanolique ($IC_{50}=590 \mu\text{g/ml}$), l'extrait éthanolique à 45% ($IC_{50}=590 \mu\text{g/ml}$) et à 70% ($IC_{50}= \mu\text{g/ml}$) ont démontré une activité anti-radicalaire nettement inférieure à celle de la présente étude. Tandis que les extraits d'acétate d'éthyle, l'extrait méthanolique et l'infusion ont donné des valeurs de IC_{50} inférieure a celle de la présente étude donc une activité anti-radicalaire supérieure.

Une autre étude menée par Gevrenova et al (2015) sur l'extrait méthanolique des parties aériennes de différentes espèces de *Bupleurum* a donné des valeurs de IC_{50} égale à $\mu\text{g/ml}$, 31.87 $\mu\text{g/ml}$, 22.12 $\mu\text{g/ml}$ pour *B. affine*, *B. baldense* et *B. flavum* respectivement, ceci montre que les extrait éthanolique des parties aériennes de la présente étude possède une activité anti-radicalaire inférieure.

Concernant les racines, la présente étude a démontré une activité anti-radicalaire supérieure à celle retrouvée dans les extraits éthanoliques (70%) des racines de *B. lycanicum* ($IC_{50}=443 \mu\text{g/ml}$) et de *B. sulphureum* ($IC_{50}=403 \mu\text{g/ml}$) et inférieure à celles de *B. turcium* ($IC_{50}=57.37$

$\mu\text{g/ml}$), *B. heldrechii* ($\text{IC}_{50}=184 \mu\text{g/ml}$) et de *B. pauciradiatum* ($\text{IC}_{50}=165 \mu\text{g/ml}$) (Kars., 2012).

VI.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

VI.2.1. *A. tenuifolius* Cav.

Selon les résultats des tests antibactériens sur milieu gélosé, une activité antibactérienne a été observée avec les extraits d'*A. tenuifolius* contre les bactéries Gram positif testées. Cependant, les bactéries gram négatif étaient résistantes à part *Klebsiella pneumoniae*.

La plus grande zone d'inhibition a été mise en évidence avec l'extrait des racines contre *Staphylococcus aureus* (23,33 mm), *Bacillus cereus* (14,33 mm) et *Klebsiella pneumoniae* (13,66 mm) et avec l'extrait des parties aériennes contre *Klebsiella pneumoniae* (15,33 mm). Une activité antibactérienne acceptable a été observée avec l'extrait des parties aériennes contre *Bacillus cereus* (10,33 mm), *Staphylococcus aureus* (9,66 mm) et *Enterococcus faecalis* (9,66 mm), et l'extrait des racines contre *Enterococcus faecalis* (10,66 mm).

La détermination des CMI et des CMB a montré que toutes les bactéries testées étaient sensibles aux extraits. Les deux extraits ont approximativement un effet inhibiteur similaire sur les souches testées.

Le traitement des bactéries par les différents extraits a révélé que les CMI et les CMB de l'extrait des parties aériennes d'*A. tenuifolius* étaient égaux pour les souches testées. Néanmoins, CMI et CMB de l'extrait des racines était inégal pour *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Toutes les activités antibactériennes enregistrées sont moins marquées que le Chloramphénicol qui a été utilisé comme un témoin positif dans ce test. Les résultats du test de diffusion sur disque en milieu gélosé ont démontré que les bactéries Gram positif et *E.coli* étaient très sensibles et leurs CMI étaient compris entre $0.003 \mu\text{g/ml}$ et $0.062 \mu\text{g/ml}$, contrairement à *P. aeruginosa* ou la CMI était de $0.125 \mu\text{g/ml}$.

Dans un travail antérieur, Ahmed et al (2016) ont évalué l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique (méthanol/eau : 80/20) d'*A. tenuifolius* contre *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *S. typhi*. Leur étude a montré l'efficacité de l'extrait contre toutes les souches testées. Dans un autre rapport, des extraits au dichlorométhane, d'acétate d'éthyle et de butanol des parties aériennes d'*A. tenuifolius* avaient des effets antibactériens contre des bactéries Gram positif (*S. aureus*, *E. faecalis*) et Gram négatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*) (Faidi et al., 2014). Panghal et al (2011) ont confirmé l'activité antimicrobienne de différents extraits

à des degrés variables d'*A. tenuifolius* contre plusieurs souches testées (*S. aureus*, *A. epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Pseudomonas aeruginosa*).

Conformément à ces résultats, nos résultats ont montré que l'extrait éthanol/eau (75/35) était actif sur les bactéries Gram positif et n'avait aucun effet sur les bactéries Gram négatif (à part *K. pneumoniae* et *S. aureus*). Ceci est peut être du à la différence dans les mécanismes de pénétration des différentes substances dans les bactéries Gram positif et Gram négatif.

VI.2.2. *B. spinosum* Gouan

D'une manière générale, des effets antibactériens significatifs ont été trouvés avec les extraits éthanol/eau (75/35) des parties aériennes et des racines contre les bactéries Gram positif. Les bactéries Gram négatif étaient résistantes. *K. pneumoniae* a montré une forte sensibilité vis-à-vis de l'extrait des parties aériennes, le diamètre d'inhibition était de 15 mm, le *S. aureus* était la plus sensible vis-à-vis de l'extrait racinaire avec un diamètre d'inhibition de 14 mm. Les autres souches étaient sensibles vis-à-vis des différents extraits avec des diamètres d'inhibition de 11.66 mm à 12.66 mm.

Les tableaux 46 et 47 indiquent que les CMI et les CMB des extraits des parties aériennes et des racines testés sur les différentes souches bactériennes varient entre la valeur la plus élevée de 50 mg/ml et la valeur la plus basse de 0.390 mg/ml.

Les souches les plus sensibles sont celles qui présentaient les CMI les plus basses. *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. aureus* et *E. faecalis* étaient les plus sensibles avec une CMI de 0.390 mg/ml vis-à-vis de l'extrait racinaire. L'extrait des parties aériennes était plus actif vis-à-vis de *S. aureus* et *E. faecalis* (CMI = 0.097 et 0.390 mg/ml respectivement). Les extraits étaient bactéricides vis-à-vis de toutes les souches à des CMB variables et presque toutes similaires aux CMI.

L'activité antibactérienne des extraits de *B. spinosum* sont reportés pour la première fois dans cette étude. Une étude antérieure a déjà démontré l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et de déchlorométhane des parties aériennes de *B. marginatum* contre diverses souches (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa* et *Bacillus subtilis*) (Ashour et al., 2014).

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était de valoriser la flore médicinale algérienne. Une étude ethnobotanique et ethnopharmacologique auprès de la population berbère algérienne a mis en exergue une pratique ancestrale très efficace dans le traitement des maladies, et a montré la richesse de la flore médicinale locale et de notre patrimoine culturel lié aux usages thérapeutiques des plantes recensées.

Cette recherche a été menée suivant une stratégie bien définie. Après réalisation d'enquêtes ethnobotaniques et une recherche bibliographique, nous avons tiré les espèces végétales les moins étudiées et nous avons choisi deux d'entre elles. Pour cette recherche, deux critères ont été utilisés afin de sélectionner des plantes pouvant présenter une activité et susceptibles de contenir des métabolites secondaires, parmi lesquelles l'ethnobotanique médicale qui nous a permis de sélectionner *Asphodelus tenuifolius* Cav. et la chimiotaxonomie qui nous a permis de sélectionner *Bupleurum spinosum* Gouan.

A. tenuifolius Cav. est une plante spontanée, commune dans les sahels littoraux oranais, les hauts plateaux et le Sahara. L'étude ethnobotanique a révélé qu'elle est utilisée dans le traitement des pathologies digestives et dermiques. *B. spinosum* Gouan est assez commune dans les hauts plateaux et l'Atlas saharien mais rare sur les hautes montagnes du Tell. Nous n'avons pas recensé un usage médicinal traditionnel pour cette plante.

Divers organes des plantes sélectionnées ont été cueillis dans leur habitat naturel afin de les étudier sur le plan botanique, phytochimique et biologique.

L'étude botanique a inclus l'étude morphologique, anatomique, l'étude des poudres des deux plantes, ainsi que l'analyse du sol. Cette étude requise a compris l'identification, l'appellation binomiale admise, les synonymes et les noms vernaculaires ainsi que la classification scientifique exacte des deux plantes.

L'étude de la phytochimie a fait l'objet d'un screening pour déterminer les principaux constituants chimiques présents dans les plantes médicinales sélectionnées. Ce criblage a révélé la présence d'anthraquinones, de tanins, de flavonoïdes et de composés triterpéniques, et l'absence d'hétérosides cardiotoniques et de coumarines chez *A. tenuifolius* ce qui confère à la plante des propriétés biologiques remarquables. Le screening phytochimique effectué sur les parties aériennes et les racines de *B. spinosum* a révélé la présence de saponines, de flavonoïdes, de stérols et terpènes, et de tanins, et l'absence d'alcaloïdes, d'hétérosides cardiotoniques. Cette étude a révélé un indice de mousse élevé ce qui peut correspondre à la richesse de cette plante en saponines. Il faut noter que l'absence ou la présence en faibles

quantités d'alcaloïdes et d'hétérosides cardiotoniques dans les deux plantes diminuent les risques liés à leur toxicité.

La phytochimie a compris également l'isolement, la purification et l'identification structurale de composés chimiques naturels. Ainsi lors de ces travaux, nous avons pu obtenir et caractériser la structure chimique de cinq composés (β -sitostérol, lutéoline et trois acides gras) des différents organes d'*A. tenuifolius*, et de huit saponines triterpéniques des racines de *B. spinosum* dont quatre sont nouvelles (3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,23,28-tétrahydroxyoléan-12-ene ;
3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-23-oxooléan-12-ene ;
acide 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28 trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque ;
et acide 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-oléan-12-ene-23-oïque). La purification a été réalisée à l'aide de différentes techniques chromatographiques alors que l'identification a été assurée par des techniques spectroscopiques incluant la spectrométrie de masse et la résonance magnétique nucléaire mono et bidimensionnelle.

L'étude chimique de *B. spinosum* était plus concluante et a complété celles déjà réalisées sur la même espèce et sur d'autres espèces du même genre. Elle a montré une fois de plus que les saponines triterpéniques dérivées de l'acide oléanolique (saikosaponines) demeurent les constituants dominants du genre *Bupleurum*, et a permis d'en savoir davantage sur la phytochimie de *B. spinosum*. Ces saponines isolées peuvent enrichir une banque de données de structures chimiques et peuvent avoir des propriétés générales de toutes les autres saponines déjà étudiées (propriétés immuno-modulatrices, cytotoxiques, anti-tumorale, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirale, et expectorantes, etc).

Nous avons également évalué les activités anti-oxydantes et antibactériennes des extraits des plantes sélectionnées in vitro. Les extraits présentent effectivement des activités intéressantes, le pouvoir antioxydant et antibactérien d'*A. tenuifolius* et de *B. spinosum* peut bien être prometteur. Ces premiers essais confirment la pertinence de la recherche de remèdes efficaces à partir des plantes. Déceler des activités biologiques dans les extraits des deux espèces végétales prouvent également la fiabilité des pharmacopées traditionnelles dans le traitement

Conclusion et perspectives

de certaines affections. Valider ce savoir-faire empirique peut contribuer à son intégration dans le maintien de la santé publique.

L'ensemble de ces travaux confirme l'intérêt des études ethnobotaniques pour conserver le savoir traditionnel ancestral en relation avec les plantes médicinales, la validité des stratégies retenues (ethnobotanique et chimiotaxonomie) dans la recherche de nouveaux remèdes contre plusieurs maladies.

En perspectives, il est important de lancer une investigation plus poussée sur la flore médicinale algérienne peu étudiée, demeurant une source potentielle de métabolites secondaires biologiquement actifs. Plusieurs études, pour une réelle valorisation des molécules isolées, pourraient être poursuivies :

- Etude des différentes activités biologiques, *in vitro* et *in vivo*, des saponines purifiées de *B. spinosum*, car les produits naturels constituent un réel espoir pour la recherche de nouveaux médicaments.
- Etude de leurs toxicités et de leurs devenir dans l'organisme, par des études pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, pour pouvoir éviter tout risque d'effets secondaires sur la santé humaine.
- Etablir leurs relations structure-activité, en vue de sélectionner des saponines plus actives et moins toxiques.
- Poursuivre les études sur les autres espèces endémiques algérienne du genre *Bupleurum* et *Asphodelus*, très peu étudiées sur le plan phytochimique et biologique.

Bibliographie

Abd El-Fattah, H., 1997. Chemistry of *Asphodelus fistulosus*. International Journal of Pharmacognosy. 35, 274–277.

Abdel-Gawad, M., Hasan, A., Raynaud, J., 1976. Etude de l'insaponifiable et des acides gras des tubercules d'*Asphodelus albus*. Fitoterapia. 47, 111–112.

Abdel-Moghib, M., Basaif, S., 2002. Two new naphthalene and anthraquinone derivatives from *Asphodelus*. Pharmazie. 57, 286–287.

Aboul-Enein, A.M., El-Ela, F.A., Shalaby, E.A., El-Shemy, H.A., 2012. Traditional medicinal Plants research in Egypt: studies of antioxidant and anticancer activities. Journal of Medicinal Plants Research. 6, 689–703.

Abraham, E., Chain, E., 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature. 146, 837.

Abuhamdah, S., Abuhamdah, R., Al-Olimat, S., Paul, C., 2013. Phytochemical investigations and antibacterial activity of selected medicinal plants from Jordan. European Journal of Medicinal Plants. 3, 394–404.

Adawia, K., 2017. Comparison of the Total Phenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Methanolic Roots Extracts of *Asphodelus microcarpus* and *Asphodeline lutea* Growing in Syria. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 9, 159–164.

Adinolfi, M., Corsaro, M.M., Lanzetta, R., Parrilli, M., Scopa, A. A., 1989. Bianthrone C-Glycoside from *Asphodelus ramosus* tubers. Phytochemistry. 28, 284–288.

Adinolfi, M., Lanzetta, R., Marciano, C.E., Parrilli, M., Giulio, A.D.E., 1991. A New class of anthraquinone-anthrone-C-glycosides from *Asphodelus ramosus* Tubers. Tetrahedron. 47, 4435–4440.

Adjanohoun, E., Cusset, G., Issa, L., Keita, A., Lejoly, J., Weachter, P., 1989. Notice pour la récolte et l'entrée des données. Agence de Coopération Culturelle et Technique.

Ahmed, A., Howladar, S., Mohamed, H., Al-Robai, S., 2016. Phytochemistry, antimicrobial, anti-giardial and anti-amoebic activities of selected plants from Albaha area, Saudi Arabia. British Journal of Medicine & Medical Research. 18, 1–8.

Aiguier, C., 1938. Djanet. Etude géographique et médicale. Archives de l'Institut Pasteur d'Alger. 16, 4, 533–587.

Akai, E., Takeda, T., Kobayashi, Y., Ogihara, Y., 1985. Sulfated triterpenoid saponins from the leaves of *Bupleurum rotundifolium* L., Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 33, 3715–3723.

Ali-Shtayeh, M.S., Abu Ghdeib, S.I., 1999. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. Mycoses. 42, 665–672.

Al Groshi, A., Nahar, L., Andrew, E., Auzi, A., Sarker, S.D., Ismail, F.M.D., 2017. Cytotoxicity of *Asphodelus aestivus* against two human cancer cell lines. Natural Products Chemistry and Research. 5.

- Al-kayali, R., Kitaz, A., Haroun, M., 2016. Antibacterial activity of *Asphodelin lutea* and *Asphodelus microcarpus* against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 8, 1964–1968.
- ElSohly, H.N., Danner, S., Li, X-C., Nimrod, A.C., Clark, A.M., 1999. New antimycobacterial saponin from *Colubrina retusa*. Journal of Natural Products. 62, 1341–1342.
- Amar, Z., Noureddine, G., Salah, R., A., 2013. Germacrene-D, characteristic essential oil from *A. Microcarpus* Salzm and Viv. flowers growing in Algeria. Global Journal of Environmental Science and Management. 3, 108–11.
- Amzal, H., Alaoui, K., Tok, S., Errachidi, A., Charof, R., Cherrah, Y., Benjouad, A., 2008. Protective effect of saponins from *Argania spinosa* against free radical-induced oxidative haemolysis. Fitoterapia. 79, 337–344.
- The Angiosperm Phylogeny Group., 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants. Annals of the Missouri Botanical Garden. 85, 531–553.
- APG II., 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society. 141, 399–436.
- APG III., 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society. 161, 105–121.
- APG IV., 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society. 181, 1–20.
- Apaydin, E., Arabaci, G., 2017. Antioxidant capacity and phenolic compounds with HPLC of *Asphodelus ramosus* and comparison of the results with *Allium cepa* L. and *Allium porrum* L. extracts. Turk. Journal of Agriculture and Natural Sciences. 4, 499–505.
- Ashour, M. L., Wink. M., 2010. Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 63, 305–321.
- Ashour, M. L., El-Readi, M. Z., Hamoud, R., Y Eid, S., El Ahmady, S. H., Nibret, E., Herrmann, F., Youns, M., Tahrani. A., Kaufmann. D., Wink, M., 2014. Anti-infective and cytotoxic properties of *Bupleurum marginatum.*, Chinese Medicine. 9, 4.
- Aslam, N., Janbaz, K.H., Jabeen, Q., 2016. Hypotensive and diuretic activities of aqueous-ethanol extract of *Asphodelus tenuifolius*. Bangladesh Journal of Pharmacology. 11, 830–837.
- Aslantürk, S.Ö., Çelik, T.A., 2013, Investigation of antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the extracts from tubers of *Asphodelus aestivus* Brot. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 7, 610–621.
- Al-Yahya, M.A., Al-Meshal, I.A., Mossa, J.S., Khatibi, A., Hammouda, Y. 1983. Phytochemical and biological screening of Saudi medicinal plants: Part II. 1, 21–24.
- Aubert, G., 1978. Méthodes d'analyses des sols. 2ème Edition, Centre régional de Documentation Pédagogique, CRDP, Marseille.

- Bahri-Sahloul. R., Ammar. S., Fredi, R.B., Saguem. S., Grec. S., Troitin. F., Skhiri, F.H., 2009. Polyphenol contents and antioxidant activities of extracts from flowers of two *Crataegus azarolus* L. varieties. *Pakistan Journal of biological sciences*. 12, 660-668.
- Bagnères, A. G., Hossaert-Mckey, M., 2017. *Ecologie chimique*. ISTE édition, London.
- Barrero, A. B., Haidour, A., Sedqui, A., Ibn Mansour, A., Rodriguez-Garcia, I., Antonio, L., Munoz-Dorado, M., 2000. Saikosaponins from roots of *Bupleurum gibraltarium* and *Bupleurum spinosum*. *Phytochemistry*. 54, 741–745.
- Batista, O., Duarte, A., Nascimento, J., Fatima Simoes. M., 1994. Structure and antimicrobial activity of diterpenes from the roots of *plectranthus hereroensis*. *Journal of Natural Products*. 57, 858–861.
- Beghyn, T., Desprez-Poulain, R., Willand, N., Folleas, B. and Desprez, B., 2008. Natural compounds: leads or ideas ? Bioinspired molecules for drug discovery. *Chemical Biology and Drug Design*. 72, 3-15.
- Bellakhdar, J., 1997. *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Ibis Press, Paris. France.
- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Ahmed Amine, B., Mouffok, E., Khaldi, A., Abderrahmane, H., 2016. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of ethnopharmacology*. 175.
- Benavides, A., A, Napolitano., C, Bassarello., V, Carbone., P, Gazzo., A. M, Malfitano., P, Saggese., M. Bifulco., S, Piacente., C, Cosimo Pizza., 2009. Oxylipins from *Dracontium lorentense*. *Journal of Natural Products*. 72, 813–819.
- Bérubé-Gagnon, J., 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de maîtrise. Université du Québec à Chicoutimi. Canada.
- Bouallala, M., Bradai, L., Messouda, A., 2014. Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. *مجلة الواحات للبحوث و الدراسات*. 7, 18–26.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*. 148, 395–402.
- Boukef M.K., 1986. *Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne*. ACCT, Paris.
- Boulos, L., 1983. *Medicinal plants of North Africa*. Reference Publications. Inc ; Michigan (USA).
- Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*, 5^{ème} édition. Tec & Doc, Paris.
- Bruneton, J., 2016. *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*, 5^{ème} édition. Tec & Doc, Paris.
- Bush, K., 2004. Antibacterial drug discovery in the 21st century. *Clinical Microbiology and Infection*. 10, 10–17.

- Calis, I., Birincioglu, S.S., Kirmizibekmez, H., Pfeiffer, B., Heilmann, J., 2006. Secondary Metabolites from *Asphodelus aestivus*. *Z. Naturforsch.* 61, 1304–1310.
- Caporale, L.H., 2000. Mutation is modulated : implication for evolution. *Bioessays.* 22, 388–395.
- Cateni, F., Zilic, J., Falsone, G., Scialino, G., Banfi, E., 2003. New cerebrosides from *Euphorbia peplis* L.: Antimicrobial activity evaluation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* 13, 4345-4350.
- Chadli, S., 2009. Afrique du Nord: anthropologie génétique et histoire du peuplement humain. *Antropo.* 20, 41–48.
- Chehma, A., Djebar, M.R., 2008. Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien : distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. 17, 36–45.
- Chelghoum, M., Smati, D., Mitaine-Offer, A-C., Paululat, T., Lacaille-Dubois, M-L., 2018. Four new triterpene saponins from *Bupleurum rigidum* L. *Phytochemistry Letters.* 27, 223–228.
- Chen, X.K., Zhang, R.Y., Zhang, Z.L., Wang, B., 1993. Isolation and identification of two new saponins from *Bupleurum smithii* Wolff, *Acta Pharmaceutica Sinica.* 28, 352–357.
- Chen, X., Yu, T., Chen, Z., Zhao, R., Mao, S., 2014. Effect of saikosaponins and extracts of vinegar-baked Bupleuri Radix on the activity of b-glucuronidase. *Xenobiotica.* 44, 785–791.
- Cheng, Y.L., Chang, W.L., Lee, S.C., Liu, Y.G., Lin, H.C., Chen, C.J., Yen, C.Y., Yu, D.S., Lin, S.Z., Harn, H.J., 2003. Acetone extract of *Bupleurum scorzonerifolium* inhibits proliferation of A549 human lung cancer cells via inducing apoptosis and suppressing telomerase activity. *Life Sciences.* 73, 2383–2394.
- Cheng, Y.L., Lee, S.C., Lin, S.Z., Chang, W.L., Chen, Y.L., Tsai, N.M., Liu, Y.C., Tzao, C., Yu, D.S., Harn, H.J., 2005. Anti-proliferative activity of *Bupleurum scorzonerifolium* in A549 human lung cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Letters.* 222, 183–193.
- Cheok, C.Y., Abdelkarim, H., Sulaiman, R., 2014. Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International.* 59, 16–40.
- Chermat, S., Gharzouli, R., 2015. Ethnobotanical study of medicinal flora in the North East of Algeria - An empirical knowledge in Djebel Zdim (Setif). *Journal of Materials Science and Engineering A.* 5, 50–59.
- Chimona, C., Karioti, A., Skaltsa, H., Rhizopoulou, S., 2013. Occurrence of secondary metabolites in tepals of *Asphodelus ramosus* L. *Plant Biosystems.* 148, 31–34.
- Cordell, G.A., 1995. Changing strategies in natural products chemistry. *Phytochemistry.* 40, 1585–1612.
- Cheriti, A., Belboukhari, N., 2005. Savoir traditionnel et valorisation des plantes médicinales du sud ouest algérien. *Annales de l'Université de Bechar.*

Références bibliographiques

- Coelho, M.T., Gonçalves, J.C., Alves, V., Moldao-Martins, M., 2011. Antioxidant activity and phenolic content of extracts from different *Pterospartum tridentatum* population growing in Portugal. *Procedia Food Science*. 1, 1454–1458.
- Dangi, A.S., Aparna, S.M., Yadav, J.P., Arora, D.R., Chaudhary, U., 2013. Antimicrobial potential of *Asphodelus tenuifolius*. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*. 2, 5663–5667.
- Denoël, A., 1958. *Matières médicales*. Edition Les presses universitaires de Liege, Paris.
- Di Petrillo, A., González-Paramás, A.M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., Fais, A. 2016. Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16, 453.
- Di Petrillo, A., Fais, A., Pintus, F., Santos-Buelga, C., González-Paramás, A.M., Piras, V., Orrù, G., Mameli, A., Tramontano, E., Frau, A. 2017. Broad-range potential of *Asphodelus microcarpus* leaves extract for drug development. *BMC Microbiology*. 17, 159.
- Dobignard, A., Chatelain, C. 2012. *Index synonymique de la flore d'Afrique du nord 4 : 1–431*. Éditions des conservatoires et jardin botaniques, Genève.
- Drummond, A.J., Waigh, R. D., The development of microbiological methods for phytochemical screening. In : *Recent research developments in phytochemistry*. Pandalai S. Research Signpost. India, 2000, 143–152.
- Ebata, N., Nakajima, K., Hayashi, K., Okada, M., Maruno, M., 1996. Saponins from the root of *Bupleurum falcatum*, *Phytochemistry*. 41, 895–901.
- Ehrlich, P. R., Raven, P. H., 1964. Butterflies and plants : a study in coevolution. *International Journal of Organic Evolution*. 18, 586–608.
- El-Ghaly, E. S., 2017. Phytochemical and biological activities of *Asphodelus microcarpus* leaves. *Journal of Pharmacognosy Phytochemistry*. 6, 259–264.
- Eloff, J. N., 1999. The antibacterial activity of 27 Southern African members of the Combretaceae. *South African Journal of Science*. 95, 148–152.
- El-Seedi, H.R., 2007. Antimicrobial arylcoumarins from *Asphodelus microcarpus*. *Journal of Natural Products*. 70, 118–120.
- Fabricant, D.S., Farnsworth, N.R., 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*. 109, 69–75.
- Fafal, T., Yilmaz, F.F., Birincioglu, S.S., Hosgor-Limoncu, M., Kivçak, B., 2016. Fatty acid composition and antimicrobial activity of *Asphodelus aestivus* seeds. *Human Veterinary Medicine*. 8, 103–107.
- Faidi, K., Hammami, S., Salem, A.B., El Mokni, R., Mastouri, M., Gorcii, M., Ayedi, M.T., 2014. Polyphenol derivatives from bioactive butanol phase of the Tunisian narrow-leaved asphodel (*Asphodelus tenuifolius* Cav., Asphodelaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*. 8, 550–557.

Références bibliographiques

- Fang, W., Yang, Y.-J., Guo, B.-L., Cen, S., 2017. Anti-influenza triterpenoid saponins (saikosaponins) from the roots of *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
- Farnsworth, N.R., 1966. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55, 225–276.
- Faugeras, G., Lavenir, R., 1965. Guide des travaux pratiques d'essai des drogues végétales. Edition Vigot frères. Paris.
- Folley H., 1930. Mœurs et médecine Touareg de l'Ahaggar. *Archives de l'Institut Pasteur d'Alger*. 8, 2, 164–287.
- Fourment., Roques., 1942. Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Documents et Renseignements Agricoles, Bulletin N°61.
- Fell, K.R., Hammouda, F.M., Rizk, A.M., 1968. The Constituents of the Seeds of *Asphodelus microcarpus* Viviani and *A. fistulosus* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 20, 646–649.
- Fraenkel. G.S., 1959. The raison d'être of secondary plant substances. *Science*. 129, 1466–1470.
- Gast, M., 2000. Moissons du désert. Editions Ibis Press, Paris.
- Gevrenova, R., Kondeva-Burdina, M., Denkov, N., Zheleva-Dimitrova, D., 2015. Flavonoid profiles of three *Bupleurum* species and in vitro hepatoprotective activity of *Bupleurum flavum* Forsk. *Pharmacognosy Magazine*. 11, 14–23.
- Ghoneim, M.M., Ma, G., El-Hela, A., Mohammad, A., Kottob, S., El-Ghaly, S., Cutler, S.J., 2013. Biologically active secondary metabolites from *Asphodelus microcarpus*. *Natural Product Communication*. 8, 1117–1119.
- Ghoneim, M.M., Elokely, K.M., El-Hela, A.A., Mohammad, A, E, I., Jacob, M., Radwan, M.M., Doerksen, R.J., Cutler, S.J., Ross, S.A., 2014a. Asphodosides A-E, anti-MRSA metabolites from *Asphodelus microcarpus*. *Phytochemistry*. 105, 79–84.
- Ghoneim, M.M., Elokely, K.M., El-Hela, A.A., Mohammad, A., Jacob, M., Cutler, S.J., Doerksen, R.J., Ross, S.A., 2014b. Isolation and characterization of new secondary metabolites from *Asphodelus microcarpus*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 23, 3510–3515.
- Gillet, B., Bléneau, S., Beloeil J.C., 1998. Caractérisation des phospholipides et des triglycérides par RMN. *Analyse des corps gras*. 3, 26–33.
- González, A.G., Freire, R., Hernández, R., Salazar, J.A., Suárez, E., 1973. Asphodelin and Microcarpin, Two New Bianthraquinones from *Asphodelus microcarpus*. *Chemistry and Industry*. 4, 851.
- González-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sanchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M.E., Censorii, E., de Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadjichambi, D., Hadjichambis, A., Houmani, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat,

Références bibliographiques

- M., Hmamouchi, M., ElJohrig, S., 2008. Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia Journal of Ethnopharmacology. 116, 341–357.
- Goudable, J.I., Favier, A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. 11, 115-20.
- Govaerts, R., 2003. World Checklist of Selected Plant Families Database in ACCESS: 1-216203. The board of trustees of the royal botanic gardens, Kew. <http://wcsp.science.kew.org/qsearch.do>. Consulté le 28/11/2020.
- Guardabassi, L., Courvalin, P., 2006. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: FM Aarestrup, F.M. (Eds). Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press., Washington DC, USA. 1–18.
- Guignard, J-L., 1979. Abrégé de biochimie végétale. MASSON.
- Guinea, M.C., Parellada, J., Lacaille-Dubois, M.A., Wagner, H., 1994. Biologically active triterpene saponins from *Bupleurum fruticosum*. Planta Medica. 60, 163–167.
- Gülcin, I., Mshvildadze, V., Gepdireman, A., Elias, R., 2004. Antioxidant activity of saponins isolated from Ivy: α -Hederin, Hederasaponin-C, Hederacolchiside-E and Hederacolchiside-F. Planta Medica. 70, 561–563.
- Gürbüz, I., Üstün, O., Yesilada, E., Sezik, E., Akyürek, N., 2002. In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions. Journal of Ethnopharmacology. 83, 241–244.
- Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 27, 1–93.
- Haghighi, Z., Karimi, N., Modarresi, M., Mollaei, S., 2012. Enhancement of compatible solute and secondary metabolites production in *Plantago ovata* Forsk. by salinity stress. Journal of Medicinal Plant Research. 6, 3495–3500.
- Halliwell, B., 2004. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). Free Radical Research. 31, 261–272.
- Hammouda, F.M., Rizk, A.M., Ghaleb, H., Abdel-Gawad, M.M., 1972. Chemical and Pharmacological Studies of *Asphodelus microcarpus*. Planta Medica. 22, 188–195.
- Hammouda, F.M., Rizk, A.M., Seif El-Nasr, M.M., 1974. Anthraquinones of certain Egyptian *Asphodelus* species. Z. Naturforsch. 29, 351–354.
- Hara, S., Okabe, H., Mihashi, K., 1987. Gas-liquid chromatographic separation of aldose enantiomers as trimethylsilyl ethers of methyl 2-(polyhydroxyalkyl)-thiazolidine-4 (R)-carboxylates. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 35, 501–506.
- Hartmann, T., 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry. 68, 2831–2846.
- Hiai, S., Oura, H., Nakajima, T., 1976. Coloration of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid. Planta Medica. 29, 116–122.

- Heinrich, M., Teoh, H. L., 2004. Galanthamine from snowdrop—the development of a modern drug against Alzheimer’s disease from local Caucasian knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*. 92, 147–162.
- Heinrich, M., 2008. Ethnopharmacy and natural product research—Multidisciplinary opportunities for research in the metabolomic age. *Phytochemistry Letters*. 1, 1–5.
- Hostettmann, K., Marston, A., 1995. Saponins. Cambridge University Press, Great Britain.
- Howe, G.A., Schillmiller, A.L., 2002. Oxylipin meabolisme in response to stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 5, 230-236.
- Hsu, Y.L., Kuo, P.L., Weng, T.C., Yen, M.H., Chiang, L.C., Lin, C.C., 2004. The anti-proliferative activity of saponin-enriched fraction from *Bupleurum kaoi* is through Fas-dependent apoptotic pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 27, 1112–1115.
- Hu, S.C., Lee, I.T., Yen, M.H., Lin, C.C., Lee, C.W., Yen, F.L., 2016. Anti-melanoma activity of *Bupleurum chinense*, *Bupleurum kaoi* and nanoparticle formulation of their major bioactive compound saikosaponin-d. *Journal of Ethnopharmacology*. 179, 432–442.
- Huong, N.T., Matsumoto, K., Kasai, R., Yamasaki, K., Watanabe, H., 1998. In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 21, 978-981.
- Institut National de la Recherche Agronomique d’Algérie (INRAA), 2006. Deuxième rapport national sur l’état des ressources phylogénétiques.
- Ionela, D.C., Ion, I.B., 2007. Plant products as antimicrobial agents. *Sectiunea Genetică Biologie Molecula*. 8, 104–111.
- Iorizzi, M., Lanzotti, V., De Amrino, S., 2001. New glycosides from *Capsicum annuum* L. var. *Acuminatum*. Isolation, structure determination, and biological activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49, 2022–2029.
- Ishi, H., Nakamura, M., Seo, S., Tori, K., Tozyo, T., Yoshimura, Y., 1980. Isolation, characterization, and nuclear magnetic resonance spectra of new saponins from the roots of *Bupleurum falcatum* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 28, 2367–2383.
- Ishiguro, H., Takeuchi, M., Namera, A., Watanabe, T., Isoda, S., Malla, K.J., Takano, A., Kohda, H., 2001. Studies on medicinal plant resources of the Himalayas (4), chemical evaluation of *Bupleurum falcatum* var. *gracillimum* collected in Nepal. *Natural Medecine*. 55, 55–60.
- Kadri, Y., Moussaoui, A., Benmebarek A., Étude ethnobotanique de quelques plantes médicinales dans une région hyper aride du Sud-ouest Algérien «Cas du Touat dans la wilaya d’Adrar». 2018. *Journal of Animal & Plant Sciences*. 36, 5844-5857.
- Kalim, M.D., Bhattacharyya, D., Banerjee, A., Chattopadhyay, S., 2010. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of plants used in Unani system of medicine. *BMC Complementary and Alternative Medecine*. 10, 77.

- Kang, S.J., Lee, Y.J., Kim, B.M., Kim, Y.J., Woo, H.D., Jeon, H.K., Chung, H.W., 2008. Effect of Bupleuri Radix extracts on the toxicity of 5-fluorouracil in HepG2 hepatoma cells and normal human lymphocytes. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 103, 305–313.
- Kars, G., Kars, M.D., Akin, M., Saraçoğlu, H.T., Gündüz, U., 2012. Determination of saikosaponin, phenolic and podophyllotoxin contents of five endemic *Bupleurum* root extracts and their effects on MCF-7 cells. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6, 825–832.
- Kefifa, A., Saidi, A., Hachem, K., Mehalhal, O., 2019. An ethnobotanical survey and quantitative study of indigenous medicinal plants used in the Algerian Semi-arid Region. *Phytothérapie*. 18, 204–219.
- Khalifaoui, A., Chini, M. G., Bouheroum, M., Belaabed, S., Lauro, G., Terracciano, S., Vaccaro, M.C., Bruno, I., Benayache, S., Mancini, I., Bifulco, G., 2018. Glucopyranosylbianthrone from the algerian *Asphodelus tenuifolius*: Structural insights and biological evaluation on melanoma cancer cells. *Journal of Natural Products*. 8, 1786–1794.
- Khan, S.A., Qureshi, M.I., Bhatti, M.K., 1961. Composition of the Oil of *Asphodclis fistulosus* (Piazi). *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 38, 452–453.
- Khannoon, R., Eraqi, R., 2012. Secretions of pre-anal glands of house-dwelling geckos (Family: Gekkonidae) contain monoglycerides and 1,3-alkanediol. A comparative chemical ecology study. *Biochemical Systematics and Ecology*. 44, 341–346.
- Killeen, G.F., Madigan, C.A., Connolly, C.R., Walsh, G.A., Clark, C., Hynes, M.J., Timmins, B.F., James, P., Headon, D.R., Power, R.F., 1998. Antimicrobial saponins of *Yucca schidigera* and the implications of their in vitro properties for their in vivo impact. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 3178–3186.
- Kim, S.M., Kim, S.C., Chung, I.K., Cheon, W.H., Ku, S.K., 2012. Antioxidant and protective effects of *Bupleurum falcatum* on the l-thyroxine-induced hyperthyroidism in rats. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*. 2012, 578–497.
- Kimata, H., Hiyama, C., Yahara, S., Tanaka, O., Ishikawa, O., Aiura, M., 1979. Application of high performance liquid chromatography to the analysis of crude drugs: separatory determination of saponins of Bupleuri radix, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 27, 1836–1841.
- Klopper, R.R., Smith, G.F., Van Wyk, A.E., 2013., (2129) Proposal to conserve the family name Asphodelaceae (Spermatophyta : Magnoliidae : Asparagales). *Taxon*. 62, 402–403.
- Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N., Dossahoua, T., Laurent, A.A., 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. 6, 1–15.
- Konishi, M., Takayama, M., Jasmani, H., 1998. Triterpenoid saponins from *Hedyotis nudicaulis*. *Phytochemistry*. 48, 525–528.

Références bibliographiques

- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Chedly, A., Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 865–873.
- Kubota, T., Hinoh, H., 1968. The constitution of saponins isolated from *Bupleurum falcatum* L. *Tetrahedron Letters*. 3, 303–306.
- Kwon, S., Lee, B., Kim, M., Lee, H., Park, H. J., Hahm, D.H., 2010. Antidepressant-like effect of the methanolic extract from *Bupleurum falcatum* in the tail suspension test. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*. 34, 265–270.
- Lacaille-Dubois, M.A., WAGNER, H., 1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*. 4, 363–386.
- Lacaille-Dubois, M.A., 2000. Biologically and pharmacologically active saponins from plants: recent advances. Saponins in food, feed stuffs and medicinal plants. In: W.Oleszek A. Marston. (Eds). *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, vol 45. Dordrecht. Springer, Netherlands.
- Lacaille-Dubois, M.A., 2013. Newest results of the chemistry and pharmacology of triterpene and steroid saponins containing TCM-drugs. In: Wagner, H., Ulrich-Merzenich, G. (Eds). *Evidence and Rational Based Research on Chinese Drugs*. Springer-Verlag. Wien. 87–135.
- Lakhdari, W., Dehliz, A., Acheuk, F., Mlik, R., Hammi, H., Doumandji-Mitiche, B., Gheriani, S., Berrekbia, M., Guermit, K., Chergui, S., 2016. Ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the region of Oued Righ (Algerian Sahara). *Journal of Medicinal Plants Studies*. 4, 204–211.
- Lamaison, J.L.C., Carnet, A., 19910. Teneur en principaux flavonoïdes des fleurs de *Cratageus monogyna* Jacq et de *Cratageus laevigata* (Poiret D.C) en fonction de la végétation. *Pharmaceutic Acta Helvetiae*. 65, 315-320.
- Langeron, M., 1949. *Precis de microscopie*. Edition Masson et Ci, Paris.
- Lanzetta, R., Parrilli, M., Adinolfi, M., Aquila, T., Corsaro, M., 1990. Bianthrone C-Glucosides. 2. Three new compounds from *Asphodelus ramosus* tubers. *Tetrahedron*. 46, 1287–1294.
- Lasry, A. (1937). *Histoire de la Pharmacie indigène de l'Algérie et son folklore*. Thèse pour le Doctorat en Pharmacie, Université de toulouse, France.
- Laouini, S.E., Ladjel, S., Ouahrani, M.R., 2015. In vitro assays of the antibacterial and antioxidant properties of extracts from *Asphodelus tenuifolius* Cav and its main constituents: A comparative study. 7, 119–125.
- Launet, M. 1993. Dans les forêts, à la recherche des médicaments de demain. *Science & Vie*. 904, 86.
- L'état des ressources génétiques forestières mondiales. Rapport national Algérie., 2012.
- Le Floc'h E., 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Imprimerie Officielle. Tunis.

Références bibliographiques

- Lee, B., Shim, I., Lee, H., Hahm, D.H., 2009. Effect of *Bupleurum falcatum* on the stress-induced impairment of spatial working memory in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 32, 1392–1398.
- Lévesque, H., 2000. L'aspirine à travers les siècles : rappel historique. *Revue de Médecine interne*. 21, 8-17.
- Li, Z.Y., Guo, Z., Liu, Y.M., Liu, X.M., Chang, Q., Liao, Y.H., Pan, R.L., 2013. Neuroprotective effects of total saikosaponins of *Bupleurum yinchowense* on corticosterone-induced apoptosis in PC12 cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 148, 794–803.
- Li, D-Q., Wu, J., Liu, L-Y., Wu, Y, Y., Li, L-Z., Huang, X-X., Liu, Q-B., Yang, J-Y., Song, S-J., Wu, C-F., 2015. Neuroprotective oleanane triterpenes from the roots of *Bupleurum chinense*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 25, 3887–3892.
- Li, X., Huang, N. Liu, R., Sun, R., 2018. A comprehensive review and perspectives on pharmacology and toxicology of saikosaponins. *Phytomedicine*. 50, 73–87.
- Liang, H., Cui, Y.J., Zhao, Y.Y., Wang, B., Yang, W.X., Yu, Yanlin., 2001., Saikosaponin v-2 from *Bupleurum chinense*. *Chinese Chemical Letters*. 12, 331–332.
- Liu, Q.X., Liang, H., Zhao, Y.Y., Wang, B., Yang, W.X., Yu, Y., 2001. Saikosaponin v-1 from roots of *Bupleurum Chinense* DC. *Journal of Asian Natural Products Research*. 3, 139–144.
- Liu, Y., Wang, M.W., 2008. Botanical drugs: Challenges and opportunities - Contribution to Linnaeus memorial symposium 2007. *Life Sciences*. 82, 445–449.
- Luo, S.Q., Jin, H.F., Kawai, H., Seto, H., Otake, N., 1987. Isolation of new saponins from the aerial part of *Bupleurum kunmingense* Y. Li et S. L. *Agriculture and Biological Chemistry*. 51, 1515–1519.
- Luo, S.Q., Lin, L.Z., Cordell G.A., 1993. Lignan glucosides from *Bupleurum wenchuanense*, *Phytochemistry*. 33, 193–196.
- Luo, H.S., Zhao, Y.Y., Qia, L., Ma, L.B., Zhang, R.Y., 1996. Structure identification of saikosaponin p. *Acta Botanica Sinica*. 38, 910–913.
- Manase, M, J., 2013. Étude chimique et biologique de saponines isolées de trois espèces Malgaches appartenant aux familles des CARYOPHYLLACEAE, PITTOSPORACEAE et SOLANACEAE. Thèse en vue d'obtention du grade de docteur de l'université de Bourgogne. Université de Bourgogne. France.
- Maiza, K., Hammiche, V., Bounaga, N., Brac de le Perrière, R.A., 1993. Récents apports à l'ethnopharmacologie du Sahara algérien. Actes du 2^{ème} colloque européen d'ethnopharmacologie et 11^{ème} conférence internationale d'ethnomédecine. Heidelberg, Allemagne, 169-171.
- Maiza K., Smati, D., Brac De La Perrière, R.A., Hammiche, V., 2006. Médecine traditionnelle au Sahara central : Pharmacopée de l'Ahaggar. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*. 19, 141–156.

Références bibliographiques

- Maiza, K., 2007. Pharmacopée traditionnelle saharienne. Thèse en vue d'obtention de titre de doctorat en sciences médicales (DESM). Université Youssef Ben Khedda, Alger.
- Malmir, M., Serrano, R., Caniça, M., Silva-Lima, B., Silva, O., 2018. A comprehensive Review on the Medicinal Plants from the Genus *Asphodelus*. *Plants*. 7, 1–20.
- Mathieu, C., Pieltain, F., 2009. Analyse chimique des sols. Tec et Doc. Lavoisier., France.
- Matsuda, H., Murakami, T., Ninomiya, K., Ninomiya, K., Inadzuki, M., Yoshikawa, M., 1997. New hepatoprotective saponins, bupleurosides iii, vi, ix, and xiii, from chinese bupleuri radix : structure-requirements for the cytoprotective activity in primary cultured rat hepatocytes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry letters*. 7, 2193–2198.
- Massiot, G., Lavaud, C., 1995. Structural elucidation of saponins. *Studies in Natural Products Chemistry*. 15, 187–224.
- Meddour, R., Arezki, D., 2010. La flore médicinale et ses usages actuels en Kabylie (wilaya de Tizi Ouzou), quelques résultats d'une étude ethnobotanique. *Revue des Régions Arides*. n° Spécial, 181-201.
- Menghani, E., 2012. Isolation and characterization of bioactives from arid zone plants. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 4, 113–118.
- Miara, M.D., Mohamed, A.H. Seghir, H.A., 2013. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). 11, 206–218.
- Michel, T., 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de doctorat. Université d'Orléans.
- Migdal, C., Serres, M., 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine Sciences*. 27, 405–412.
- Muylaert, A., Mainil, J.G., 2012. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*. 156, 109–123.
- Nakahara, Y., Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T., 2011. Oleanene glycosides of the aerial parts and seeds of *Bupleurum falcatum* and the aerial parts of *Bupleurum rotundifolium*, and their evaluation as anti-hepatitis agents. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 59, 1329–1339.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70, 461–477.
- Ojima, F., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Junji Terao, J., 1993. Consumption of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *Free Radical Biology & Medicine*. 15, 377–384.
- OMS., 1998. Réglementation des médicaments à base de plantes. La situation dans le monde. Genève.
- OMS., 2002. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002–2005. Genève.
- OMS., 2007. Rapport de l'atelier interrégional de l'OMS sur l'utilisation de la médecine traditionnelle dans les soins de santé primaires. Mongolie.

Références bibliographiques

- Ouelbani, R., Bensari, S., Toma Nardjes, M., Douadi, K. 2016. Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of ethnopharmacology*. 194, 196–218.
- Ould el hadj, M.D., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H., 2003. *Courrier du Savoir*. 3, 47–51.
- Ozenda, P., 2004. Flore et végétation du Sahara, 3^{ème} éd. C.N.R.S, Paris.
- Pan, S. L., 2006. *Bupleurum* species: scientific evaluation and clinical applications. CRC Press. London, New York.
- Panghal, M., Kaushal, V., Yadav, J.P., 2011. In vitro antimicrobial activity of ten medicinal plants against clinical isolates of oral cancer cases. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 10, 21.
- Paris, R.P., Moyes, H., 1976. *Précis de matières médicales*. Tome 1. Editions Masson, Paris.
- Passager P. et Dorey R. (1958). El Goléa, Sahara algérien : étude historique et médicale. *Archives Institut Pasteur*. Alger, 36, 1, 75–150.
- Peksel, A., Altas-Kiyamaz, N., Imamoglu, S., 2012. Evaluation of antioxidant and antifungal potential of *Asphodelus aestivus* Brot. growing in Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6, 253–265.
- Peksel, A., Imamoglu, S., Altas Kiyamaz, N., Orhan, N., 2014. Antioxidant and radical scavenging activities of *Asphodelus aestivus* Brot. extracts. *International Journal of Food Properties*. 16, 1339–1350.
- Philippe, R., Ratsimamanga-Urverg, S., Ramanitrahasimbola, D., Rafatro, H., Rakoto-Ratsimamanga, A., 1999. Criblage d'extraits de plantes de Madagascar pour recherche d'activité antipaludique et d'effet potentialisateur de la chloroquine. *Journal of Ethnopharmacology*. 64, 117–126.
- Pistelli, L., Bilia, A.R., Marsili, A., Tommasi, N., Manunta, A. 1993a. Triterpenoid saponins from *Bupleurum fruticosum*. *Journal of Natural Products*. 56, 240–244.
- Pistelli, L., Cammilli, A., Manunta, A., Marsili, A., Morelli, I., 1993b. Triterpenoid saponins and flavonoid glycosides from *Bupleurum falcatum* subsp. *cernuum*, *Phytochemistry*. 33, 1537–1539.
- Pistelli, L., Bertoli, A., Bilia, A.R., and Morelli, I., 1996. Minor constituents from *Bupleurum fruticosum* roots, *Phytochemistry*. 41, 1579–1582.
- Polatoglu, K., Demirci, B., Can Baser, K.H., 2016. High Amounts of n-Alkanes in the Composition of *Asphodelus aestivus* Brot. Flower Essential Oil from Cyprus. *Journal of Oleo Science*. 65, 867–870.
- Prieto, J.M., Ogunsina, M.O., Novak, A., Joshi, A., Kokai, J., Costa Rocha, I.D., Manuel Pardo de Santayana., 2012. Comparative Study of the in vitro Bioactivities of *Bupleurum rigidum* and *B. frutescens*. *Natural Product Communication*. 7, 757–760.
- Quetin-Leclercq. J., 2002. Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal de Pharmacie de Belgique*. 57, 11–20.

Références bibliographiques

- Quézel, P., Santa, S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Editions du centre National de la recherche scientifique, Paris.
- Quézel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Editions du centre National de la recherche scientifique, Paris.
- Raynaud Par, J., Abdel-Gawad, M.M., 1974. Contribution à l'étude Chimiotaxinomique du Genre *Asphodelus* (Liliaceae). Lyon Linnéenne Society. Lyon, France.
- Reboul, E., 1953. Le Gourara. Etude historique, géographique et médicale. Archives de l'Institut Pasteur d'Alger. 31, 2, 163-246.
- Reynaud, J., Flament, M.M., Lussignol, M., Becchi, M., 1997. Flavonoïd content of *Asphodelus ramosus* (Liliaceae). Canadian Journal of Botany. 75, 2105–2107.
- Ribéreau-Gayon, P., Gautheret. R, J., 1965. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- Rimbau, V., Risco, E., Canigüeral, S., Iglesias, J., 1996. Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of north-African countries. Phytotherapy Research. 10, 421–423.
- Rizk, A.M., Hammouda, F.M., 1970. Phytochemical studies of *Asphodelus microcarpus* (Lipids and Carbohydrates). Planta Medica. 18, 168–172.
- Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Abdel-Gawad, M.M., 1972. Anthraquinones of *Asphodelus microcarpus*. Phytochemistry. 11, 2122–2125.
- Safar, K.N., Kazempour Osaloo, S., Assadi, M., Zarrei, M., Mozaffar, M, K., 2014. Phylogenetic analysis of *Eremurus*, *Asphodelus*, and *Asphodeline* (Xanthorrhoeaceae-Asphodeloideae) inferred from plastid trnL-F and nrDNA ITS sequences. Biochemical Systematics and Ecology. 56, 32–39.
- Safder, M., Imran, M., Mehmood, R., Malik, A., Afza, N., Iqbal, L., Latif, M., 2009a. Asphorodin, a potent lipoxygenase inhibitory triterpene diglycoside from *Asphodelus tenuifolius*. Journal of Asian Natural Products Research. 11, 945–950.
- Safder, M., Riaz, N., Imran, M., Nawaq, H., Malik, A., Jabbar, A., 2009b. Phytochemical studies on *Asphodelus tenuifolius*. Journal of the Chemical Society of Pakistan. 31, 122–125.
- Safder, M., Mehmood, R., Ali, B., Mughal, U.R., Malik, A., Jabbar, A., 2012. New secondary metabolites from *Asphodelus tenuifolius*. Helvetica Chimica Acta. 95, 144–151.
- Sanchez-Contreras, S., Diaz-Lanza, A.M., Matellano, L.F., Bernabe, M., Ollivier, E., Balansard, G., Faure, R., 1998. A sulfated saponin from *Bupleurum rigidum*, Journal of Natural Products. 61, 1383–1385.
- Sanchez-Contreras, S., Diaz-Lanza, A.M., Bernabe, M., 2000a. Four new triterpenoid saponins from the roots of *Bupleurum rigidum*. Journal of Natural Product. 63, 1479–1482.
- Sanchez-Contreras, S., Diaz-Lanza, A.M., Bartolome, C., Bernabe, M., 2000b. Minor sulfated saikosa-ponins from the aerial parts of *Bupleurum rigidum* L. Phytochemistry. 54, 783–789.

Références bibliographiques

- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., Merah, O., 2017. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops & Products*. 109, 661–671.
- Seidel, V., Plant-Derived Chemicals: A Source of Inspiration for New Drugs. *Plants*. 9, 1562.
- Seto, H., Otake, N., Luo, S-Q., Jin H.F., 1986a. A new triterpenoid glycoside from *Bupleurum chinense* DC. *Agriculture and Biological Chemistry*. 50, 939–942.
- Seto, H., Otake, N., Kawai, H., Luo, S.Q., Qian, F.G., Pan, S.L., 1986b. Isolation of triterpenoid glycosides (saikosaponins) from *Bupleurum polyclonum* Y. Li et S. L. Pan and their chemical structures. *Agriculture and Biological Chemistry*. 50, 1607–1611.
- Seto, H., Kawai, H., Otake, N., Luo, S.Q., Qian, F.G., Pan, S.L., 1986c. Structures of new saponins from *Bupleurum kunmingense* Y. Li et S. L. Pan. *Agriculture and Biological Chemistry*. 50, 1613–1620.
- Seto, H., Otake, N., Luo, S.Q., Jin, H.F., 1986d. A new triterpenoid glycoside from *Bupleurum chinense* DC. *Agriculture and Biological Chemistry*. 50, 939–942.
- Shakya, A.K., 2016. Medicinal plants: Future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*. 4, 59–64.
- Shimaoka, A., Seo, S., Minato, H., 1975. Saponins isolated from *Bupleurum falcatum* L., components of saikosaponin b, J. *Chemical Society Perkin Transactions*. 20, 2043–2048.
- Shimizu, K., Amagaya, S., Ogihara, Y., 1985. New derivatives of saikosaponins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 33, 3349–3355.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., 2007. Identification spectrométrique de composés organiques. De Boeck supérieur, 2e édition. Paris.
- Simmonds, M.S. J., 2003. Novel drugs from botanical sources. *Drug Discovery Today*. 16, 721–722.
- Simpson, M.G., 2006. *Plant Systematics*. Academic Press, USA.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144–158.
- Skoog, D.A., West, D.M., 2003. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 1 édition. De Boeck Supérieur, Paris.
- Smith, G.F., Van Wyk, B-E., Asphodelaceae. In: Kubitzki, K. (Eds) *Flowering plants. Monocotyledons. The Families and genera of vascular plants*, vol 3. Springer, Berlin, Heidelberg. 130–140.
- Sparg, S.G., Light, M.E., Van Staden, J., 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 94, 219–243.
- Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figeat, M., Jeanmonod, D., 2004. *Botanique Systématique des Plantes à Fleurs*, 3^{ème} édition. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.

- Stevens, P. F., 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Consulté le 04/11/21.
- Stevenson, D.E., Hurst, R.D., 2007. Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*. 64, 2900–2916.
- Svetaz, L., Zuljan, F., Derita, M., Petenatti, E., Tamayos, G., Caceres, A., Cechinel Filho, V., Gimenez, A., Pinzon, R., Zacchino, S., Gupta, M.P., 2010. Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 137–158.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I., 1998. critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 46, 4267–4274.
- Süntar, I., 2019. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*. 19, 1199–1209.
- Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J. R., Gomes., A., Ganguly, D. K., Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea [*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze] root extract. *Phytotherapy Research*. 15, 174–176.
- Tan, L., Zhao, Y.Y., Tu, G.Z., Wang, B., Cai, S.Q., Zhang, R.Y., 1999. Saikosaponins from roots of *Bupleurum scorzonerifolium*, *Phytochemistry*. 50, 139–142.
- (www.theplantlist.org)
- Telli, A., Esnault, M.A., Aminata, K., 2016. An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of Arid environments*. 127, 82–92.
- Tori, K., Seo, S., Yoshimura, Y., Nakamura, M., Tomita, Y., Ishii, H., 1976. Carbon-13 NMR spectra of saikosaponins A, C, D and F isolated from *Bupleurum falcatum* L. *Tetrahedron Letters*. 46, 4167–7170.
- Unal, I., Ince, O.K., 2017. Characterization of antioxidant activity, vitamins and elemental composition of Ciris (*Asphodelus aestivus* L.) from Tunceli, Turkey. *Instrumentation Science and Technology*. 45, 469–478.
- Vaghasiya, Y., Chanda, S.V., 2007. Screening of methanol and acetone extracts of fourteen Indian medicinal plants for antimicrobial activity. *Turkish Journal of Biology*. 31, 243–248.
- Valadeau, C., 2010. De l'ethnobotanique à l'articulation du soin : une approche anthropologique du système nosologique chez les yanesha de Haute Amazonie péruvienne. Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse. Université de Toulouse. France.
- Van Wyk, B.E., Yenesew, A., Dagne, E., 1995. Chemotaxonomic significance of anthraquinones in the roots of asphodeloideae (Asphodelaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 23, 277–281.
- Véla. E., Benhouhou. S., 2007. Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C. R. Biologies*, 330, 589–605.

- Verpoorte, R., 1998. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today*. 3, 232–238.
- Vincken, J.P., Heng, L., de Groot, A., Gruppen, H., 2007. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*. 68, 275–297.
- Wambebe, C., Khamofu, H., Momoh, J.A.F., Ekpeyongi, M., Audu, B.S., Njokus, O.S., Bamgboye, E.A., Nasipuri, R.N., Kunle, O.O., Okogun, J.I., Enwerem, M.N., Audam, J.G., Gamaniel, K.S., Obodozies, O.O., Samuel, B., Fojule, G., Ogunyale, O., 2001. Double-blind, placebo-controlled, randomised cross-over clinical trial of NIPRISAN® in patients with sickle cell disorder. *Phytomedicine*. 8, 252–261.
- Wang, Y., Guo, Q., Cheng, Z., Zeng, K., Liang, H., Tu, P., Chen, S., Zhang, Q., 2017. New saikosaponins from the roots of *Bupleurum chinense*. *Phytochemistry Letters*. 21, 183–189.
- Wen, S., Huifu, X., Hao, H., 2011. In vitro anti-influenza A H1N1 effect of extract of *Bupleuri Radix*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 33, 433–437.
- Williams, C.A., 1975. Biosystematics of the monocotyledoneae-flavonoid patterns in leaves of the Liliaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 3, 229–244.
- Yang, C.R., Li, X.C., 1996. Bioactive triterpenoid and steroid saponins from medicinal plants in southwest China. In: Walter, G., Yamasaki, K. (Eds.), “Saponins used in Traditional and Modern Medicine”, *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 404. Plenum Press, New York. 225–238.
- Yang, L., Wen, K.S., Ruan, X., Zhao, Y.X., Wei, F., Wang, Q., 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*. 23, 762–790.
- Yoshikawa, M., Murakami, T., Hirano, K., Inadzuki, M., Ninomiya, K., Matsuda, H., 1997. Scorzoneroid A, B and C, novel triterpene, *Tetrahedron Letters*. 38, 7395.
- You, Y.J., Lee, I.S., Kim, Y., Bae, K.H., Ahn, B.Z., 2002. Antiangiogenic activity of *Bupleurum longiradiatum* on human umbilical venous endothelial cells. *Archives of Pharmacal Research*. 25, 640–642.
- Yu, J-Q., Deng, A-J., Wu, L-Q., Zhang, Z-H., Liu, Y., Wang, W-J., Qin, H-L. 2013. Osteoclast-inhibiting saikosaponin derivatives from *Bupleurum Chinense*. *Fitoterapia*. 85, 101–108.
- Yuan, B., Yang, R., Ma, Y., Zhou, S., Zhang, X., Liu, Y., 2016. A systematic review of the active saikosaponins and extracts isolated from *Radix Bupleuri* and their applications. *Pharmaceutical Biology*. 55, 620–635.
- Zhang, R.Y., Chen, X.K., Yang, X.B., He, W.Y., Tan, L., 1994. The structures of saikosaponin m and n from *Bupleurum smithii* Wolff. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 29, 684–688.
- Zhao, Y-Y., Luo, H-S., Wang, B., Ma, L-B., Tu, G-Z., Zhang R-Y., Triterpenoid saponins from *Bupleurum smithii* var. *Parvifolium*. *Phytochemistry*. 42, 1673–1675.

Références bibliographiques

Zellagui, A., Mhidi, O., Bouaghi, E., Gherraf, N., Rhouati, S., 2013. A Germacrene –D, characteristic essential oil from *A. microcarpus* Salzm and Viv. flowers growing in Algeria. *Global Journal Of Biodiversity Science And Management.* 3, 108–110.

Annexes

Liste de préparation des différents réactifs utilisés au cours de la partie expérimentale

Réactif de Dragendorff

- Nitrate de bismuth pulvérisé.....25 g
- Iode.....38.10 g
- Iodure de potassium.....200 g
- Eau distillée.....100 ml

Réactif de Valsér Mayer

- Iodure de potassium.....25 g
- Chlorure mercurique.....6.7 g
- Eau distillée.....200 ml

Réactif de Bouchardat

- Iode.....2 g
- Iodure de potassium.....2 g
- Eau distillée.....100 ml

Réactif de Stiasny

- Formol 30 %.....10 ml
- HCl concentré.....5 ml

Réactif de Kedde

- Acide dinitro 3-5 benzoïque.....1 g
- Ethanol 96°.....qsp 100 ml

Réactif de Baljet

- Acide picrique.....1 g
- Ethanol 50°.....qsp 100 cc

Réactif de Raymond Marthoud

- 1-3 meta dinitrobenzène.....1 g
- Ethanol 96°.....qsp 100 cc

Solution de vert de méthyle

- Vert de méthyle.....1 g
- Acide acétique.....100 ml
- Eau distillée..... qsp 1000 ml

Solution de rouge Congo

- Rouge Congo.....1 g
- NH₄OH à 31 %.....100 ml
- Eau distillée.....qsp 1000 ml

Réactif de Gazet du Chatelier

- Acide lactique pur.....60 ml
- Acide lactique saturé au Soudan III...45 ml
- Sulfate d'aniline.....1,10 g
- Iode bisublimé.....0,10 g
- Iodure de potassium.....1 g
- Alcool à 95°.....10 ml
- HCL concentré et pur.....6 ml
- Eau distillée.....80 ml

Vanilline sulfurique

- Solution A : Vanilline à 1% dans l'éthanol
- Solution B : H₂SO₄

La solution est préparée avec un rapport A-B (50:1)

Tableau 1 : Situations géographiques et données climatiques des stations de l'enquête ethnobotanique.

Station	Localisation	Secteur (Quézel et Santa, 1962)	Climat
Ain El Hammam	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	Humide
Ouaguenoun	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
Boghni	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
Yakouren	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	Humide
Tigzirt	Tizi Ouzou	Secteur Kabyle et Numidien	Humide
Beni Amrane	Boumerdes	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
Tijelabin	Boumerdes	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
Dellys	Boumerdes	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
M'Chedallah	Bouira	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
El Asnam	Bouira	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
Ighil Ali	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	Subhumide
Barbacha	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	Humide
Ouzellaguen	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	Humide
Kherrata	Béjaia	Secteur Kabyle et Numidien	Humide
Cherchal	Tipaza	Secteur algérois	Subhumide
Merouana	Batna	Secteur des hauts plateaux	Aride
Ghardaïa	Ghardaïa	Secteur du Sahara septentrional	Saharien

Les bioclimats des différentes stations sont définies selon le climagramme d'Emberger (1955)

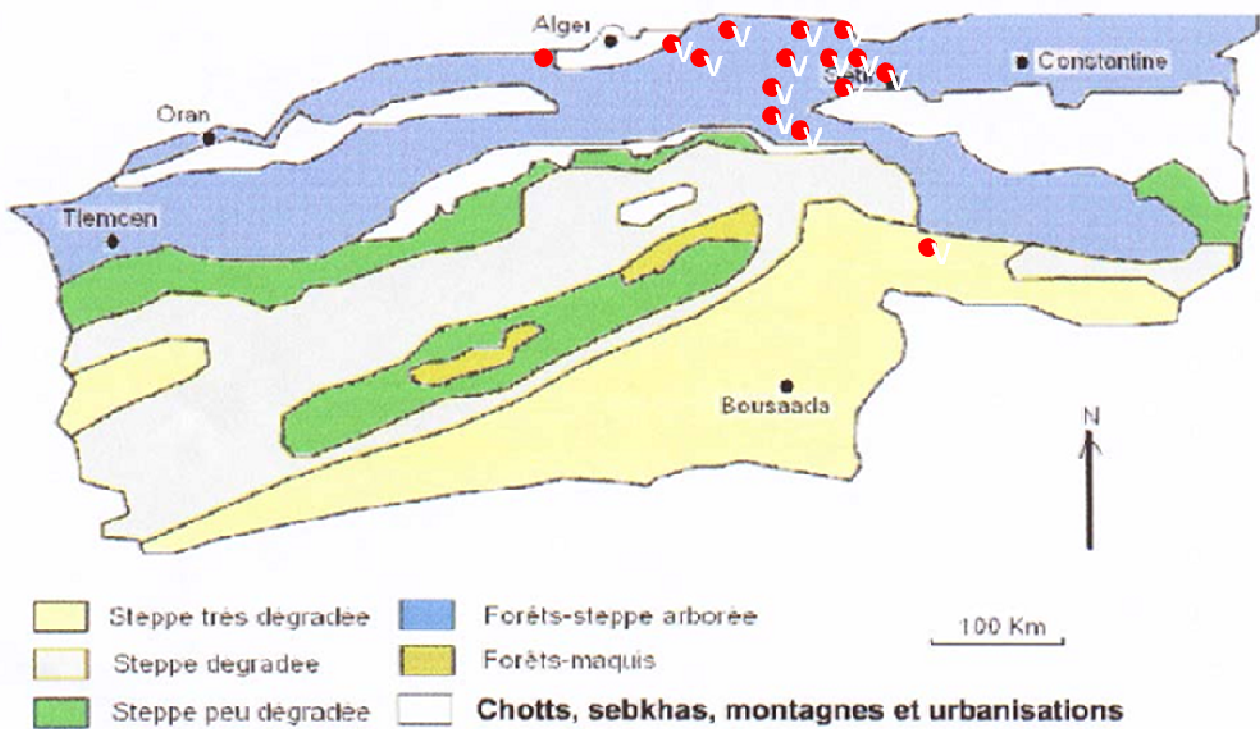
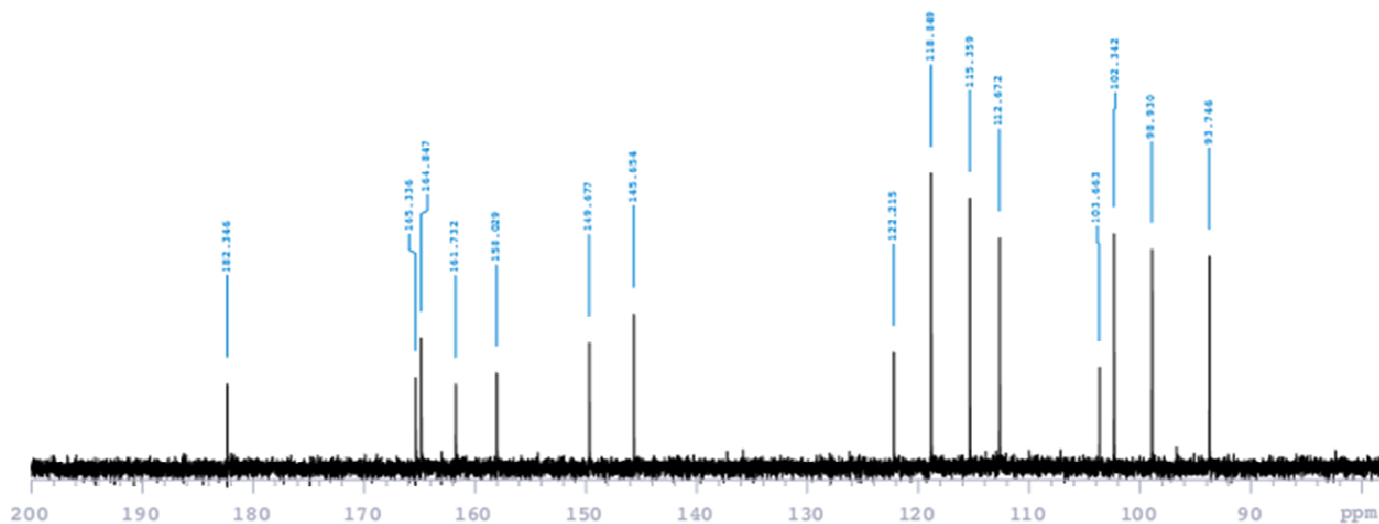
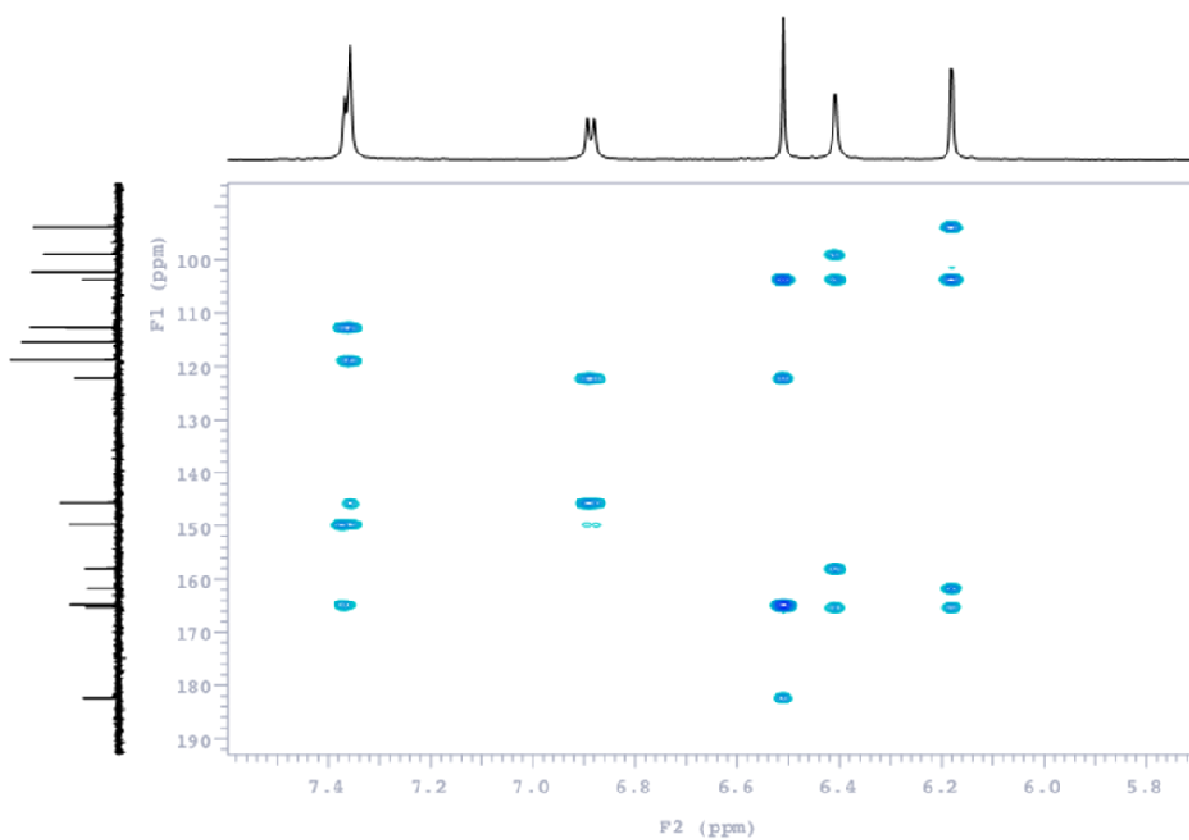


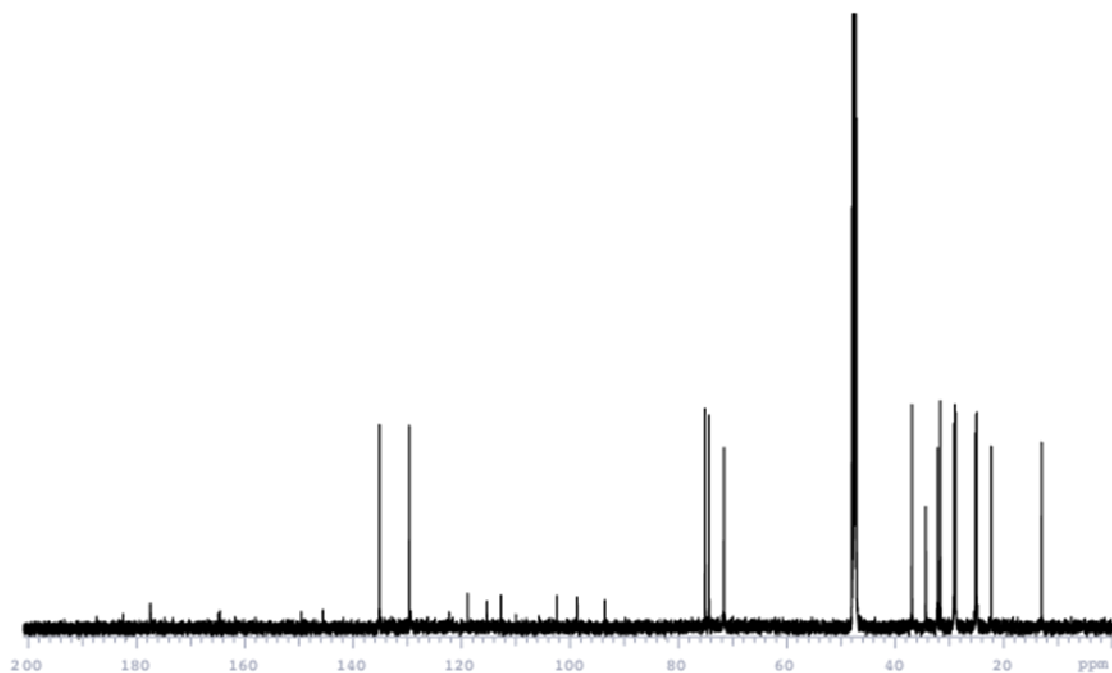
Figure 1 : Les groupements végétaux caractérisant les stations des enquêtes ethnobotaniques

Spectre RMN du composé naturel AT2

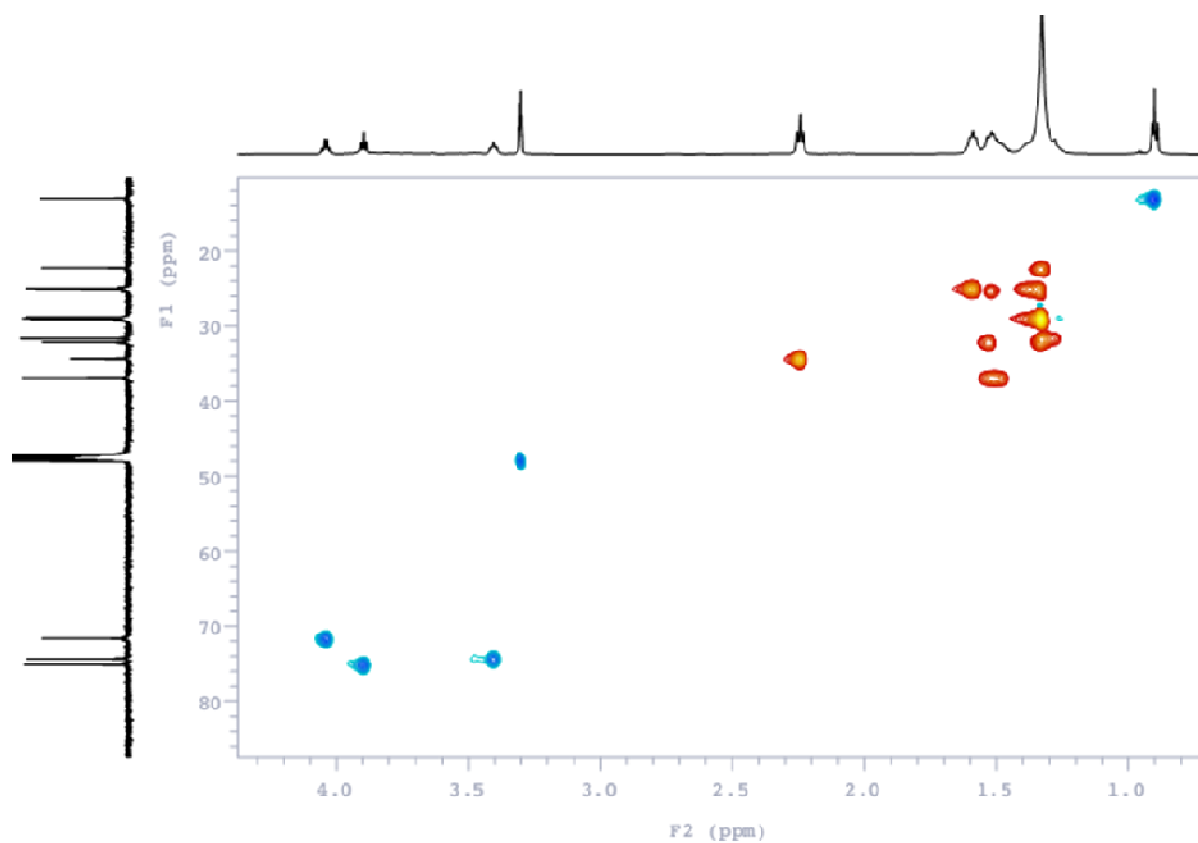
Spectre RMN ^{13}C du composé naturel AT2

Spectre HMBC du composé naturel AT2

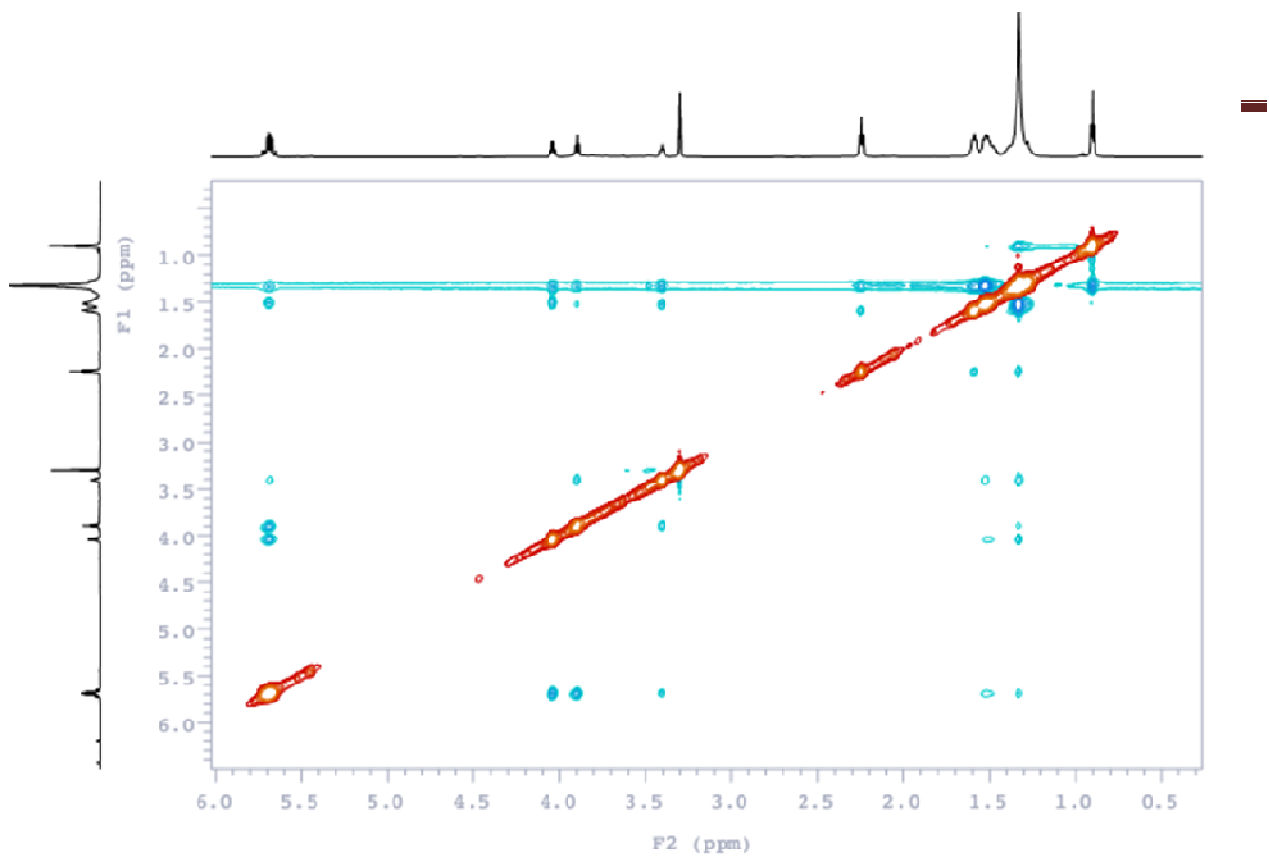
Spectre RMN du composé naturel AT3



Spectre RMN ^{13}C du composé naturel AT3

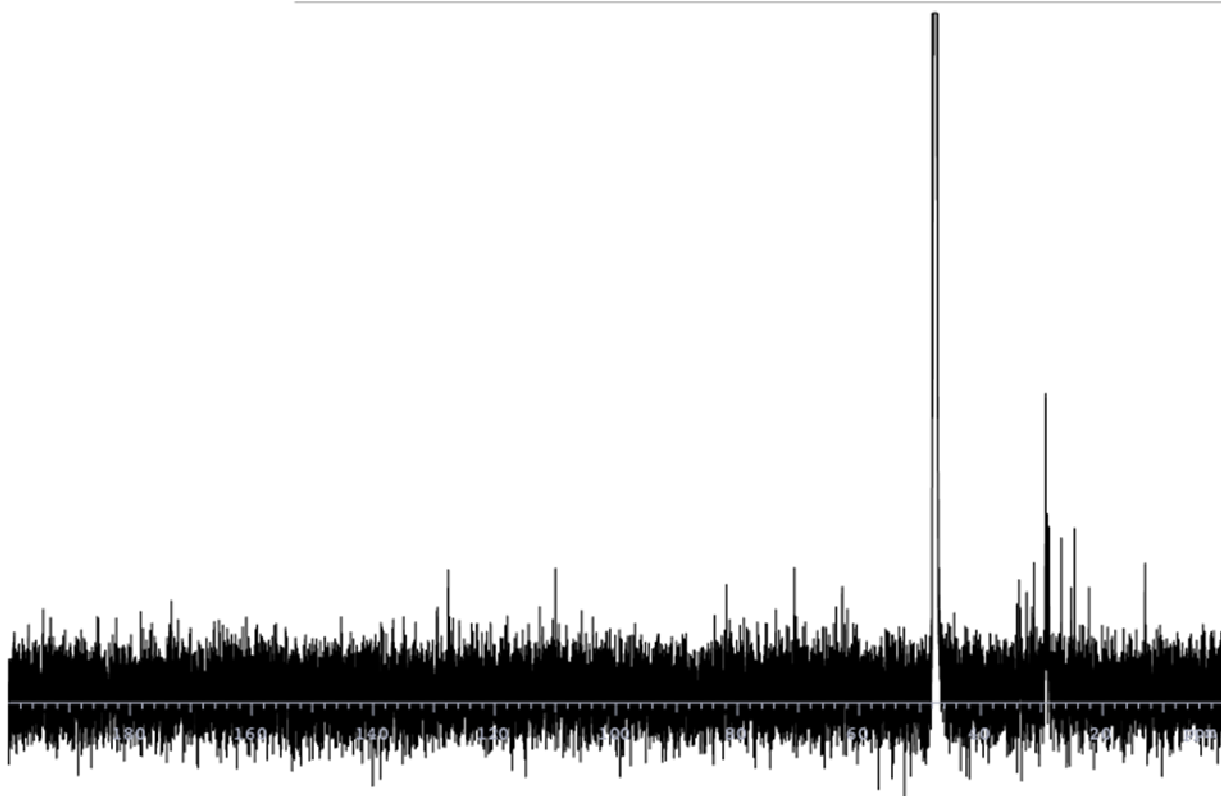


Spectre HSQC du composé naturel AT3



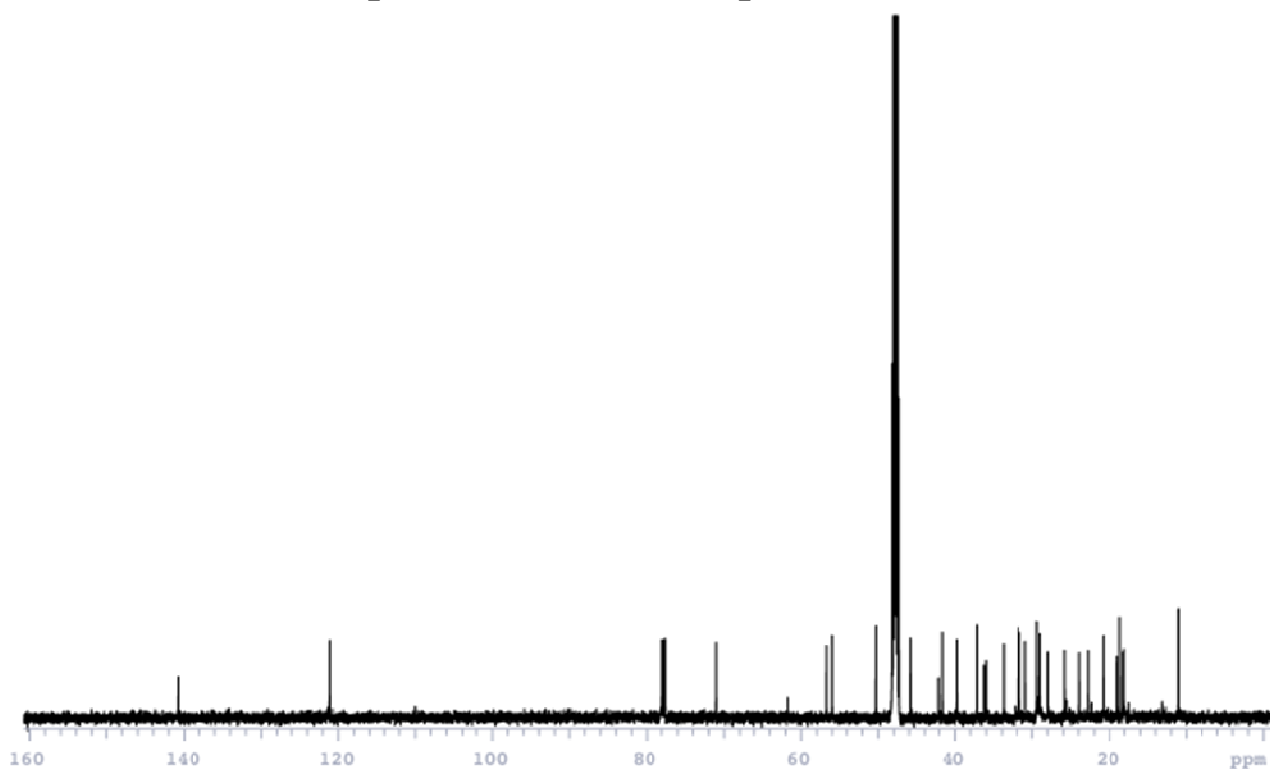
Spectre NOESY du composé naturel AT3

Spectre RMN du composé naturel AT6

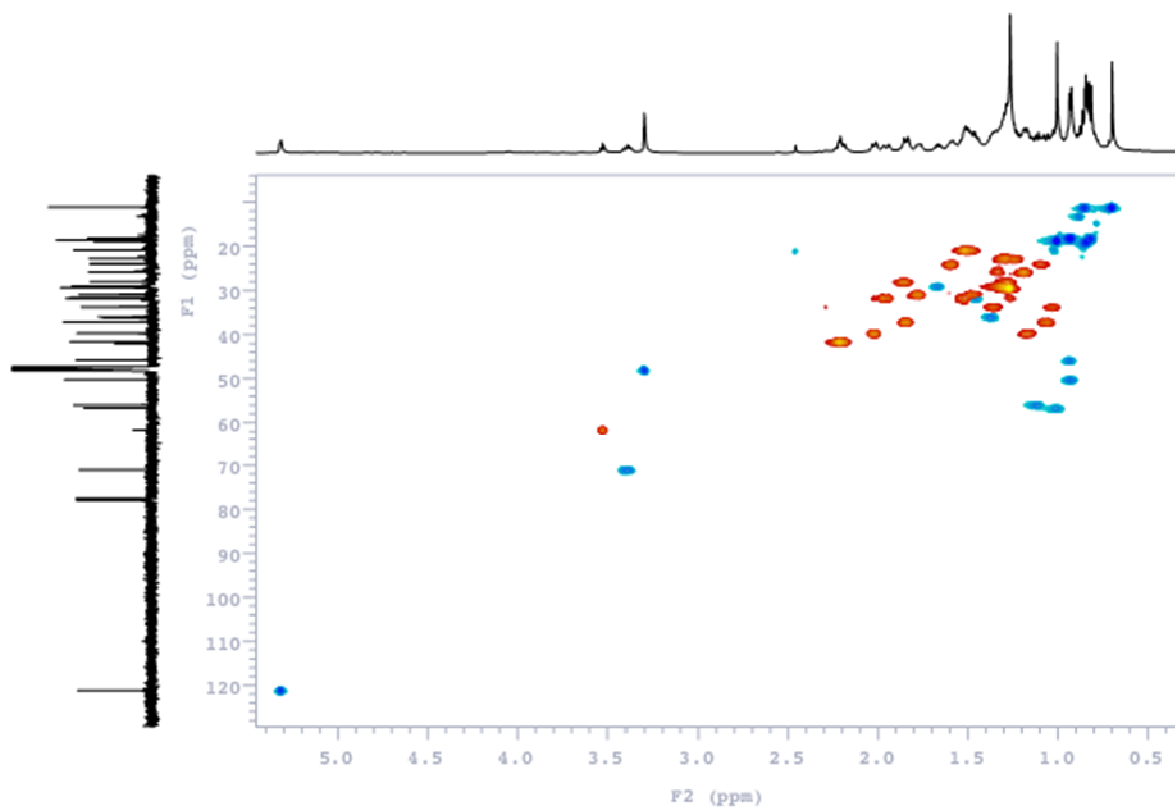


Spectre RMN ^{13}C du composé naturel AT6

Spectre RMN du composé naturel AT7

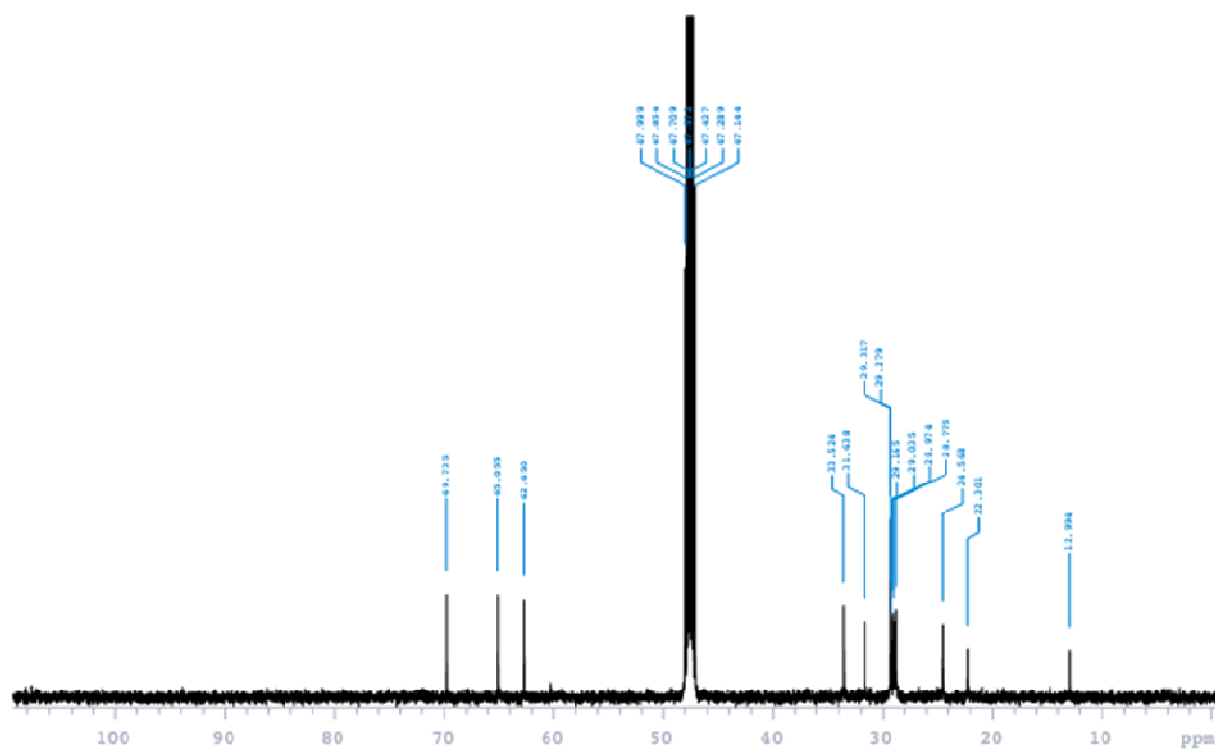
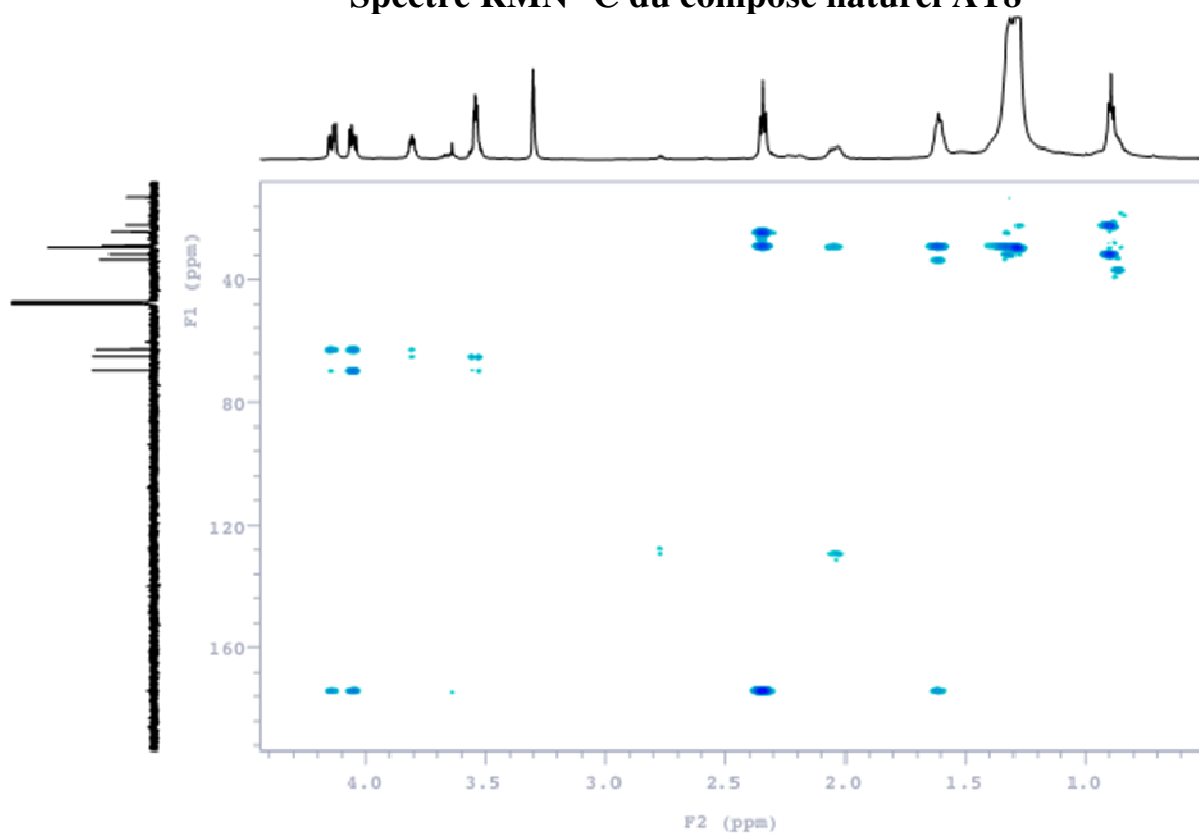


Spectre RMN ^{13}C du composé naturel AT7



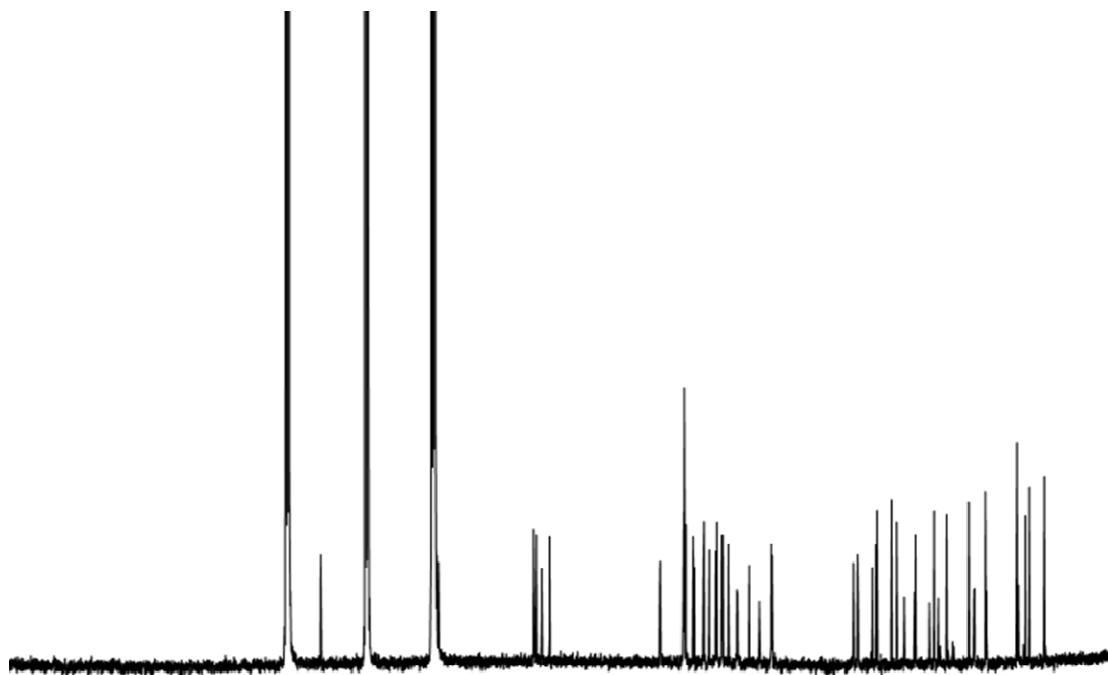
Spectre HSQC du composé naturel AT7

Spectre RMN du composé naturel AT8

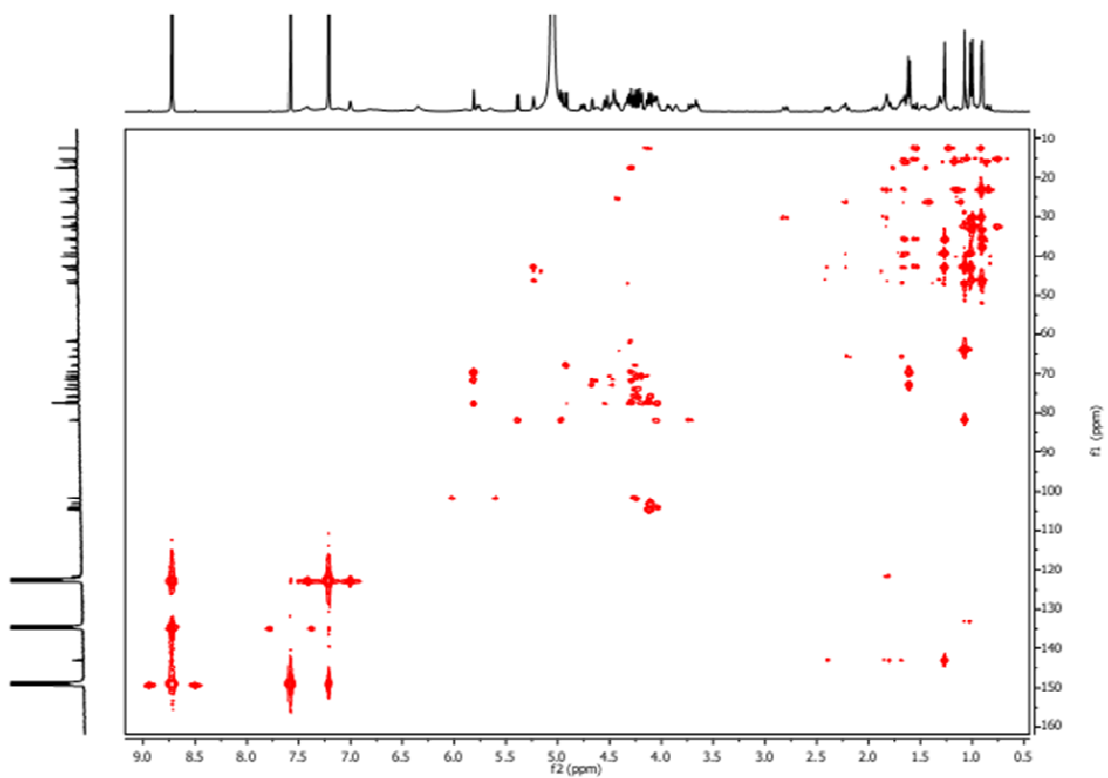
Spectre RMN ^{13}C du composé naturel AT8

Spectre HMBC du composé naturel AT8

Spectre RMN du composé naturel BS1

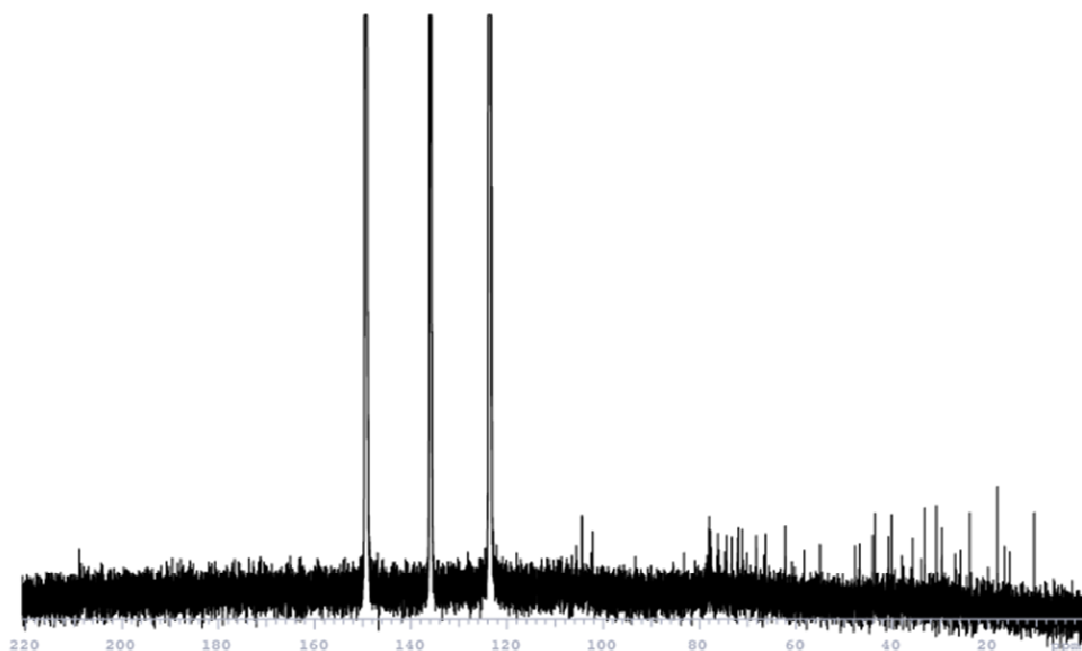


Spectre RMN¹³C du composé naturel BS1

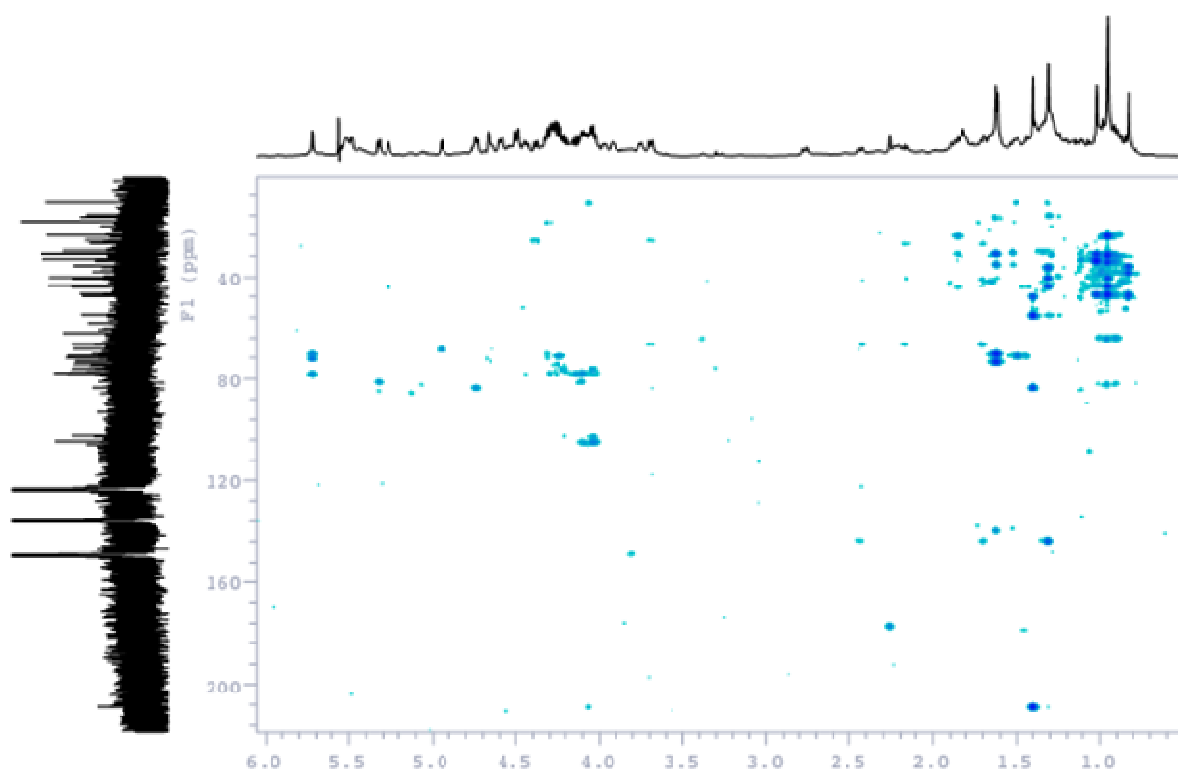


Spectre HMBC du composé naturel BS1

Spectre RMN du composé naturel BS2

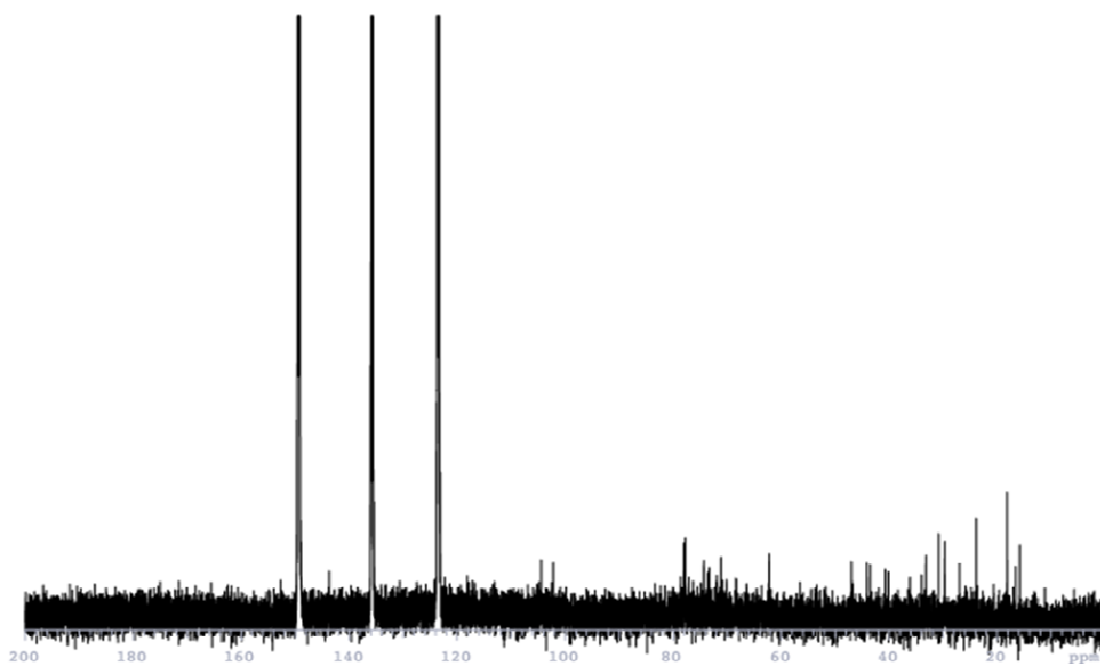


Spectre RMN ^{13}C du composé naturel BS2

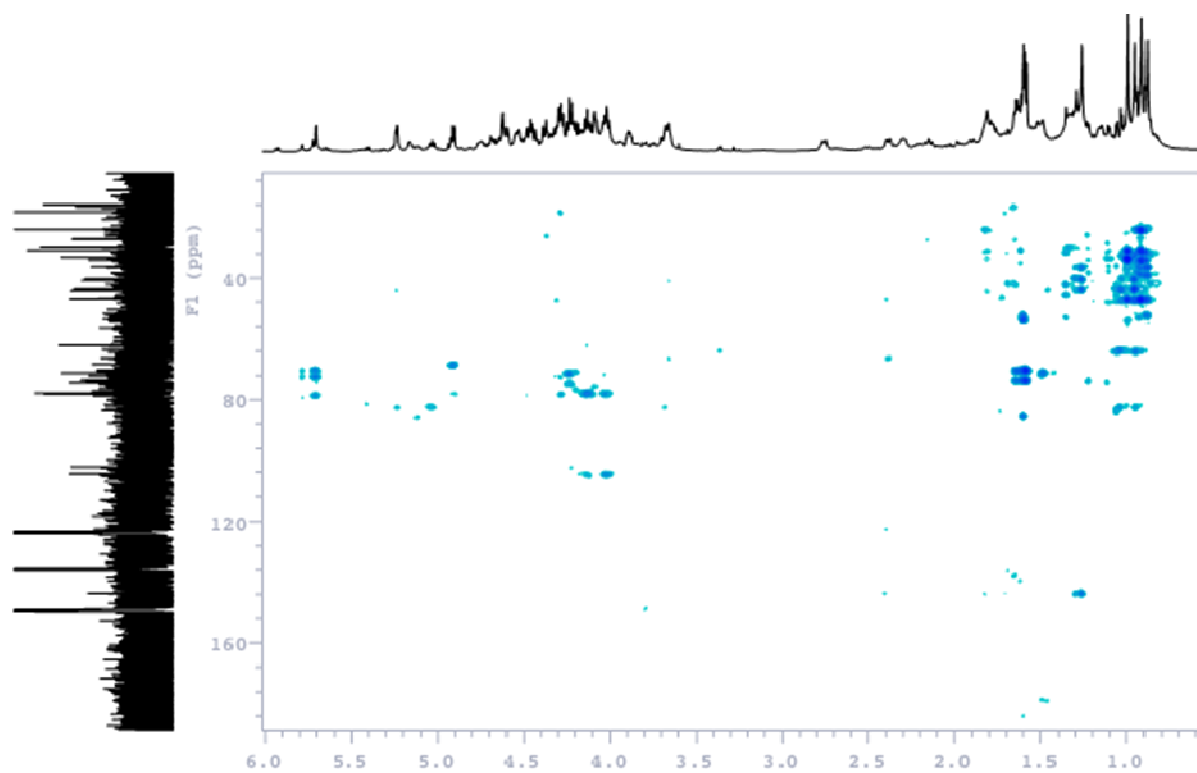


Spectre HMBC du composé naturel BS2

Spectre RMN du composé naturel BS3

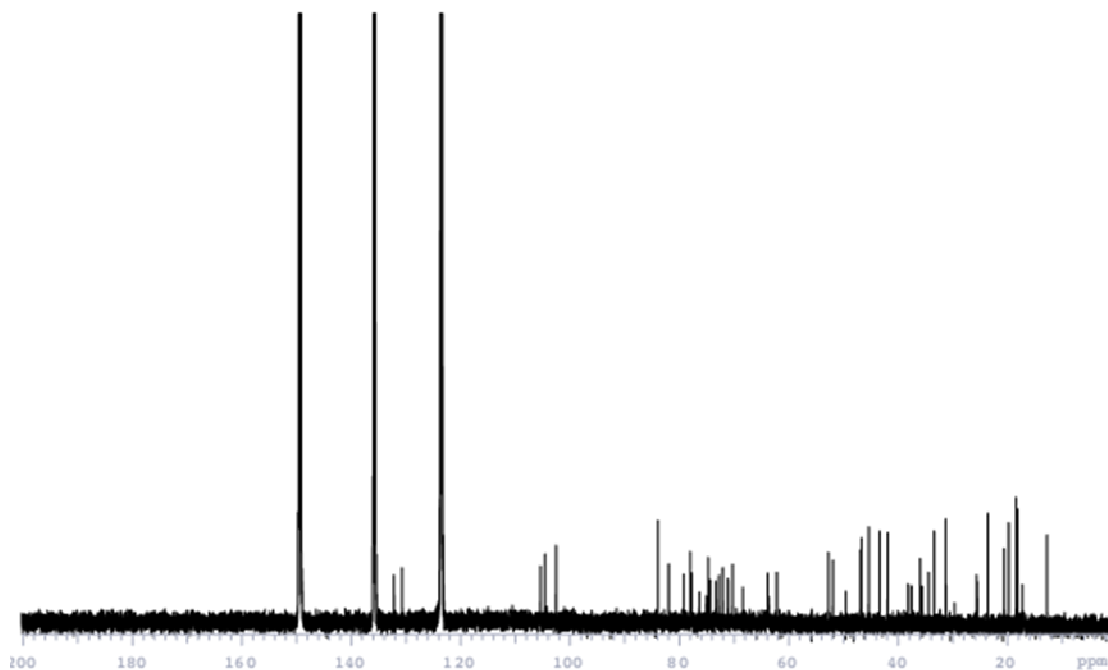


Spectre RMN ^{13}C du composé naturel BS3

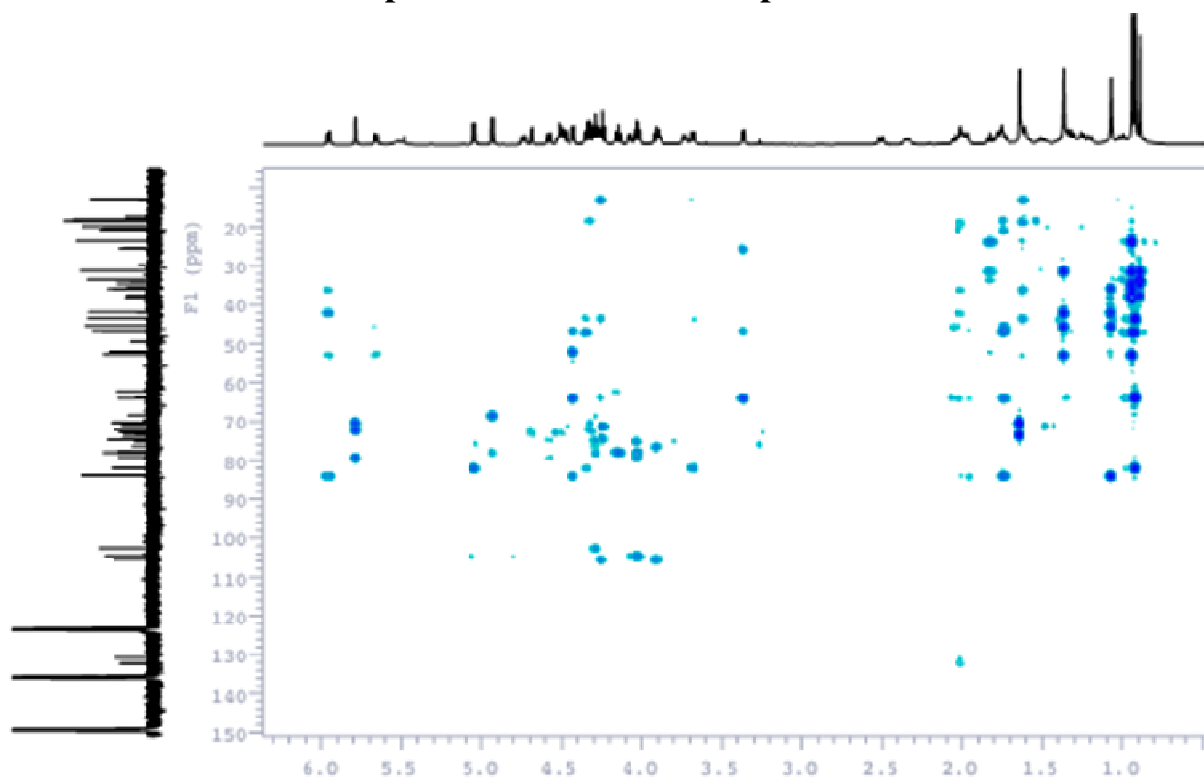


Spectre HMBC du composé naturel BS3

Spectre RMN du composé naturel BS4

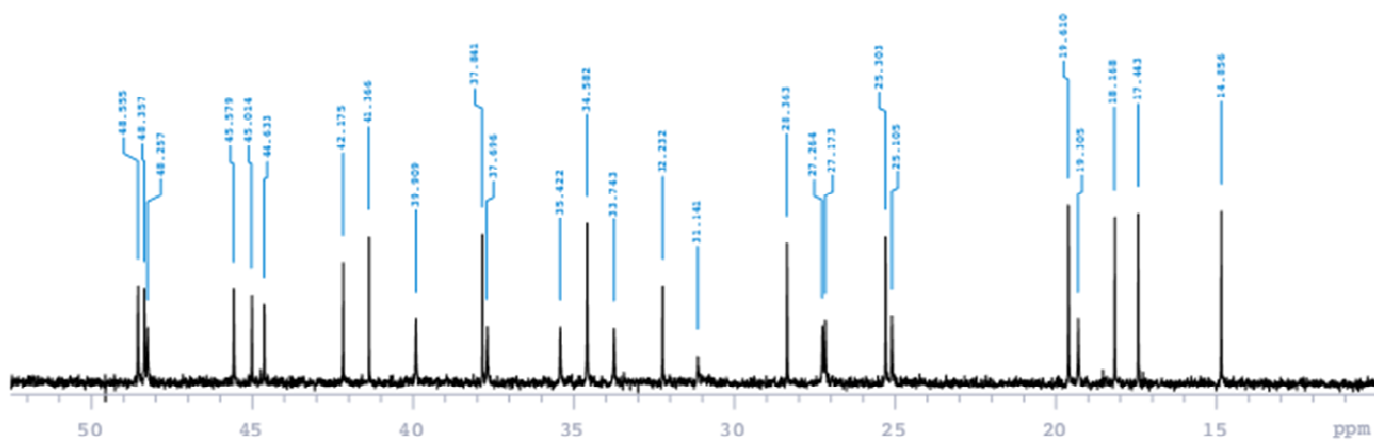


Spectre RMN ^{13}C du composé naturel BS4

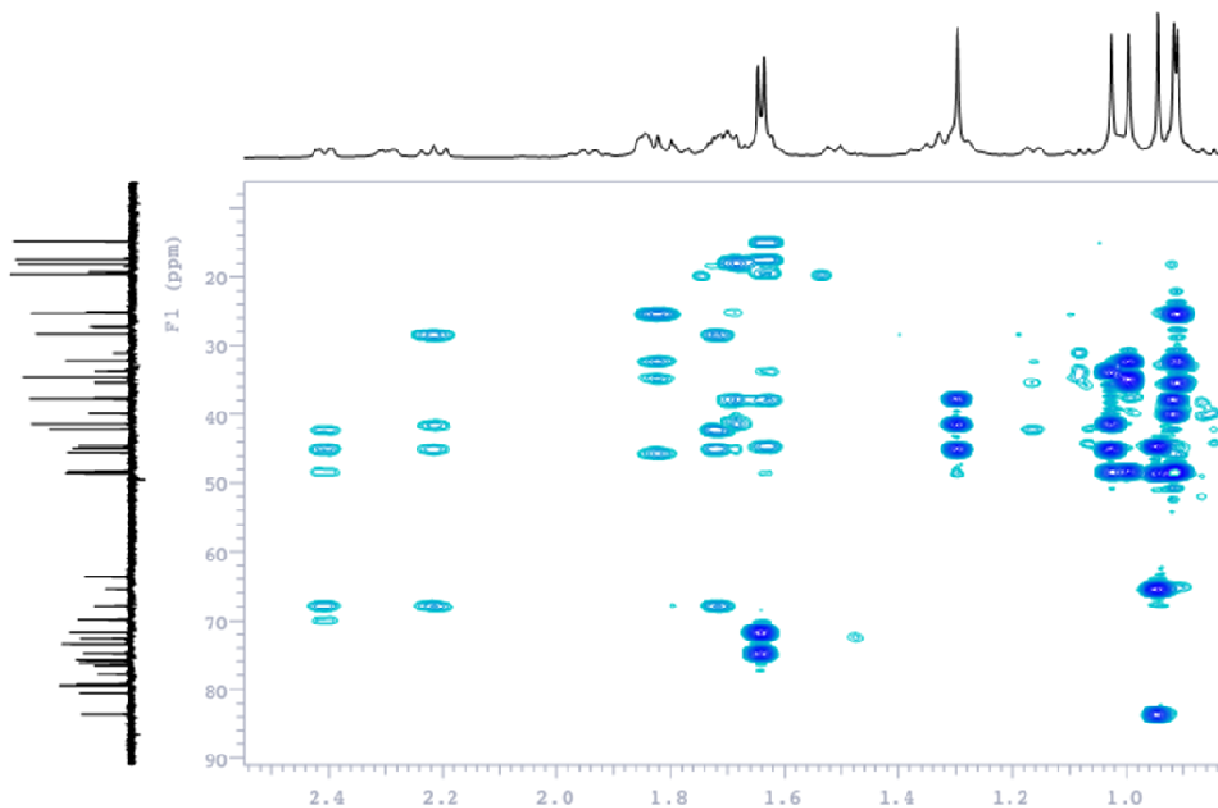


Spectre HMBC du composé naturel BS4

Spectre RMN du composé naturel BS5

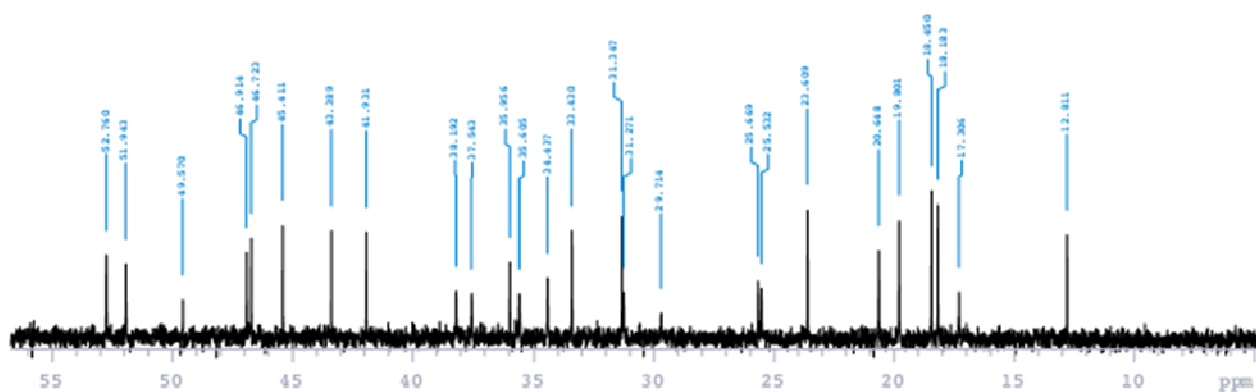
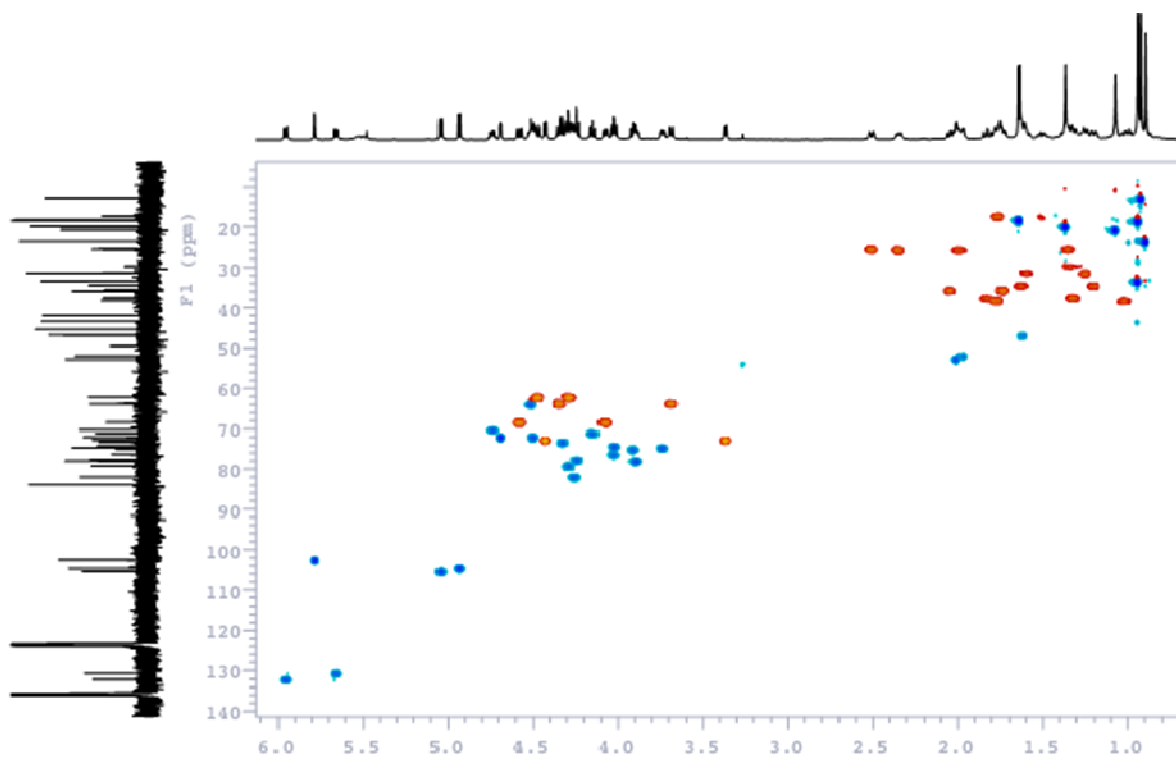


Spectre RMN¹³C du composé naturel BS5



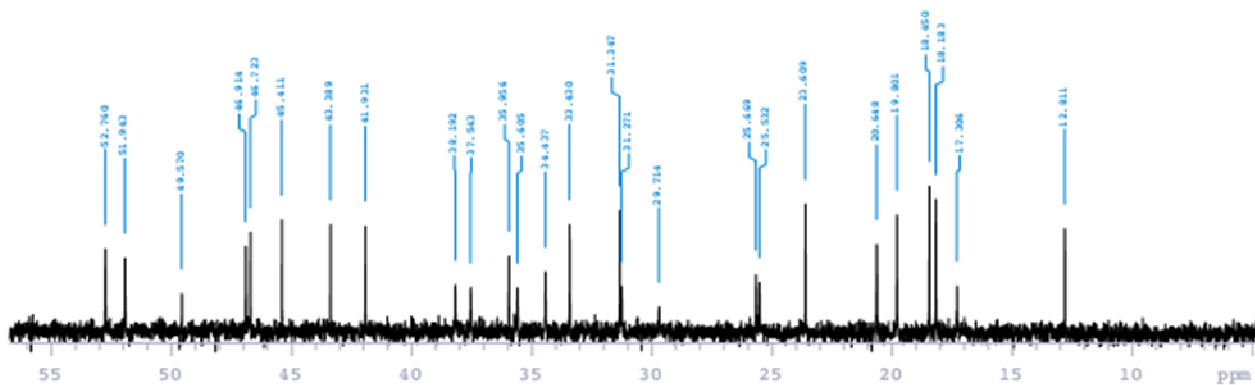
Spectre HMBC du composé naturel BS5

Spectre RMN du composé naturel BS6

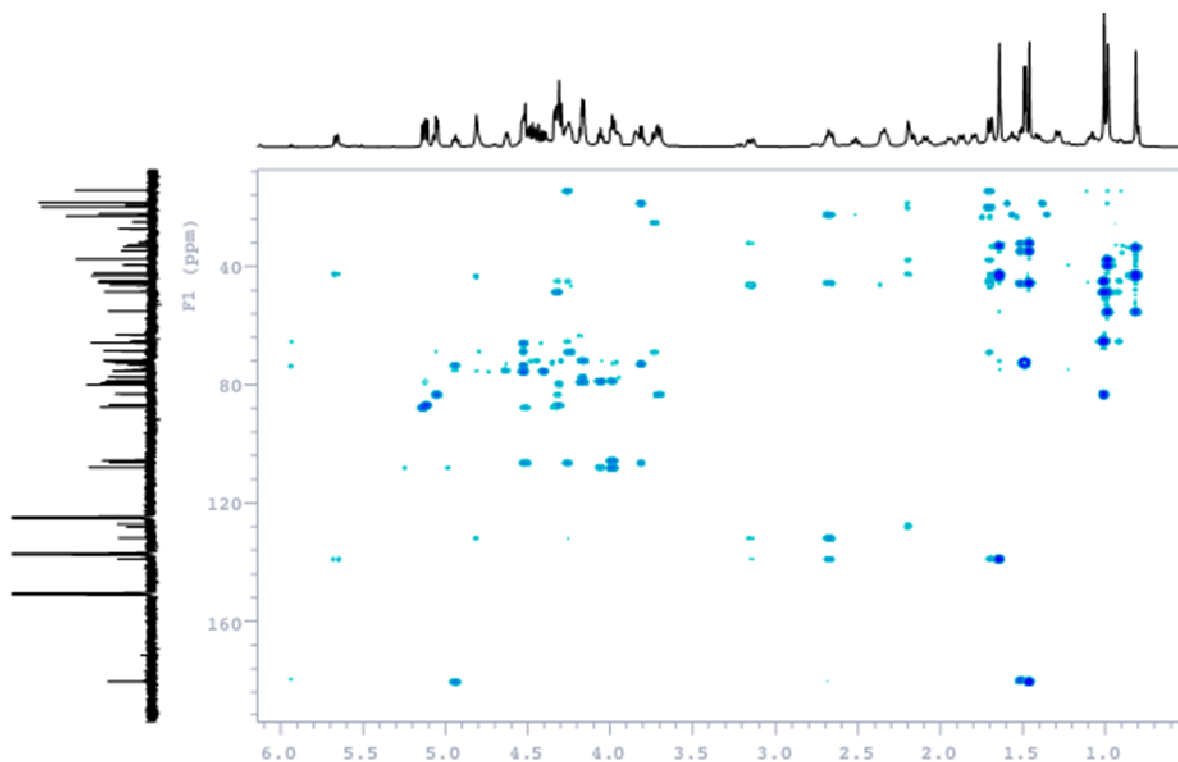
Spectre RMN ^{13}C du composé naturel BS5

Spectre HMBC du composé naturel BS6

Spectre RMN du composé naturel BS7

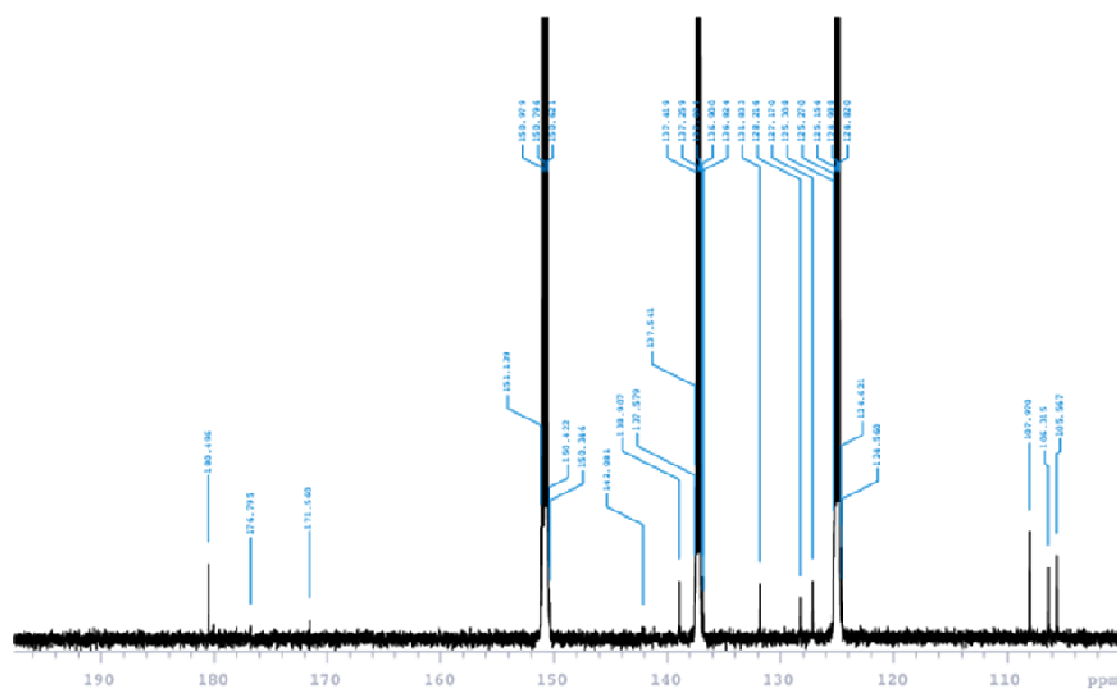


Spectre RMN ^{13}C du composé naturel BS7

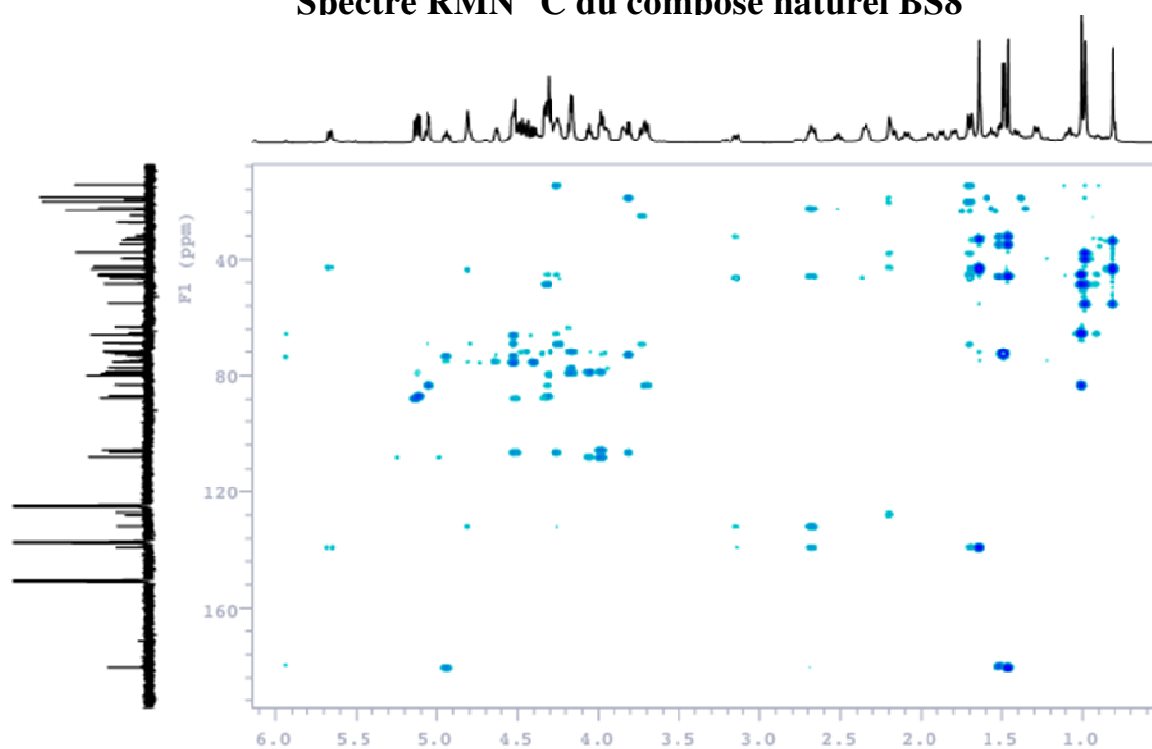


Spectre HMBC du composé naturel BS7

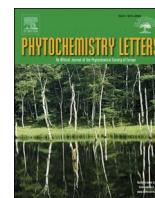
Spectre RMN du composé naturel BS8



Spectre RMN ^{13}C du composé naturel BS8



Spectre HMBC du composé naturel BS8



Triterpene saponins from the roots of *Bupleurum spinosum* Gouan

Amina Dahmoune^{a,b}, Dalila Smati^c, Anne-Claire Mitaine-Offer^a, Tomofumi Miyamoto^d, Chiaki Tanaka^d, Thomas Paululat^e, Marie-Aleth Lacaille-Dubois^{a,*}

^a Laboratoire de Pharmacognosie, PEPITE EA 4267, UFR des Sciences de Santé, Université de Bourgogne Franche-Comté, BP 87900, 21079 Dijon Cedex, France

^b Faculté de Médecine, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algeria

^c Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, Université d'Alger, Algeria

^d Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, 812-8582, Japan

^e Universität Siegen, Organische Chemie II, Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät, D-57076 Siegen, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Bupleurum spinosum
Apiaceae
Triterpene saponins
NMR spectroscopy

ABSTRACT

Three previously undescribed triterpene saponins, and four known ones, were isolated from the EtOH/H₂O extract of the roots of *Bupleurum spinosum*. Their structures were characterized using spectroscopic techniques including 1D and 2D NMR (¹H, ¹³C, COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, and HMBC) experiments and mass spectrometry as 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,23,28-tetrahydroxyolean-12-ene, 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,28-trihydroxy-23-oxoolean-12-ene, 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-D-glucopyranosyl-3β,16β,28-trihydroxyolean-12-ene-23-oic-acid. The chemotaxonomic significance is underlined.

1. Introduction

The genus *Bupleurum*, family Apiaceae, consisting of about 200 species, is widespread in semi tropical regions of the Northern Hemisphere, Eurasia and North Africa, and particularly in the Mediterranean regions (Pan, 2006). The flora of Algeria contains 14 species of *Bupleurum* (Quézel and Santa, 1962). In the Chinese Pharmacopoeia, the official drugs are represented by *Bupleurum chinense* D.C. and *B. scorzonifolium* Willd. They are often used in combination with other drugs as antihepatotoxic, antipyretic, analgesic, sedative, and antidepressant agents, in case of menstrual complaints, sudden loss of hearing, and malaria (Lacaille-Dubois, 2013).

Saikosaponins are the major biological active substances in the genus *Bupleurum*, amounting to up to 7% of the total dry weight in roots (*Bupleuri Radix*, Chinese name: Chaihu, Japanese name: Saiko), which is a well-known and a very important crude drug in the Traditional Chinese Medicine, and has been used for at least 2000 years (Ding et al., 1986; Ashour and Michael, 2011). Saikosaponins represent a group of oleanane-type glycosides, which are commonly found in a number of plant families. Saikosaponins isolated from medicinal plants such as in *Bupleurum* spp (Chelghoum et al., 2018), *Heteromorpha* spp (Cheng et al.,

2006), and *Scrophularia scorodonia* (Giner et al., 2000) have been reported to possess various biological activities, namely antihepatitis, antinephritis, antihepatoma, anti-inflammation, and antibacterial effects, as well as being able to modulate the immune function (Li et al., 2018). Furthermore, essential oils, lignans, flavonoids, coumarins, polysaccharides, polyacetylenes, phytosterols, and phenylpropanoids are also reported (Pan, 2006).

Bupleurum spinosum Gouan is a hemispherical bush with woody stems, strongly thorny at the extremities. The leaves 3–5 cm wide, are sparse, persistent, oblong, and sessile. Small yellow-green flowers form umbels with 8–20 equal radii (Quézel and Santa, 1962). Previous phytochemical analysis on Moroccan species led to the isolation of five oleanane-type saponins (Barrero et al., 2000), polyacetylenes, terpenoids and flavonoids (Barrero et al., 1998). However, there are no studies of the Algerian species. In this study, the isolation and structure elucidation of three new triterpene saponins together with four known ones from the roots of *B. spinosum* Gouan are described.

2. Results and discussion

An aqueous-ethanolic extract of the roots of *B. spinosum* was

* Corresponding author at: Laboratoire de Pharmacognosie, PEPITE EA 4267, UFR des Sciences de Santé, Université de Bourgogne Franche-Comté, BP 87900, F-21079 Dijon cedex, France.

E-mail address: m-a.lacaille-dubois@u-bourgogne.fr (M.-A. Lacaille-Dubois).

<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.08.007>

Received 5 May 2020; Received in revised form 13 July 2020; Accepted 7 August 2020

1874-3900/© 2020 Phytochemical Society of Europe. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

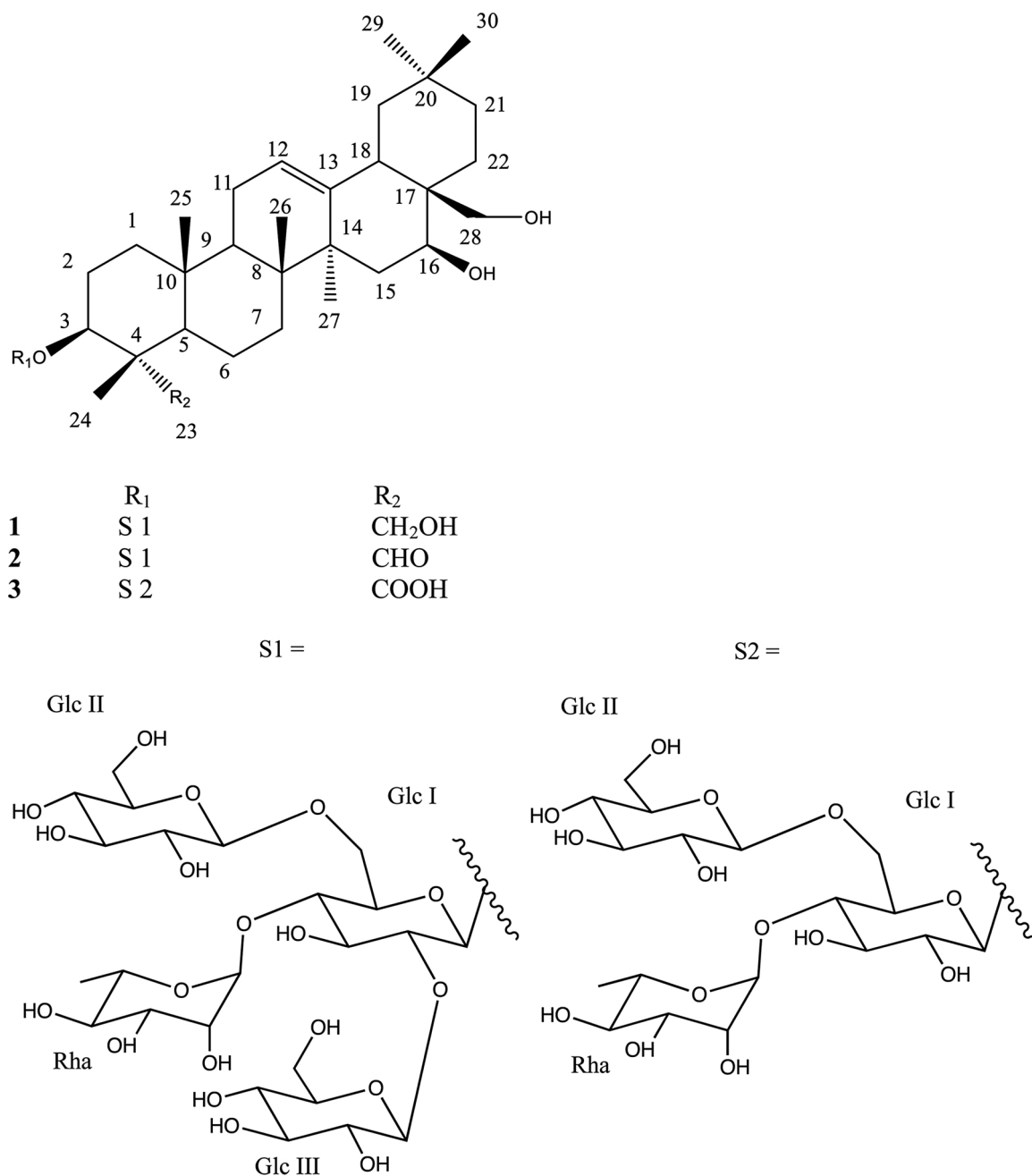


Fig. 1. Structure of compounds 1–3.

submitted to multiple chromatographic steps on normal and reverse phase RP-18 silica gel yielding seven pure saponins (1–7), three of them (1–3) being previously undescribed (Fig. 1). Their structures were elucidated by spectroscopic analysis, including HR-ESI-MS, 1D and 2D NMR (¹H-¹H COSY, TOCSY, ROESY and ¹H-¹³C HSQC, HMBC) spectroscopic data and by comparison with literature values for the known compounds. These latter (4–7) were identified as nepesaikosaponin K (3-*O*-β-glucopyranosyl(1→6)-[(α-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-glucopyranoside-3β,16β,23,28-tetrahydroxyolean-12-ene) (4), previously isolated from *B. marginatum* and *B. falcatum* (Ishiguro et al., 2001; Fang et al., 2017), chikosaikoside II (3-*O*-β-glucopyranosyl(1→6)-[(α-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-glucopyranoside of saikogenin F) (5), previously obtained from *B. longiradiatum* (Kimata et al., 1982), saikosaponine v-1 (3-*O*-β-D-glucopyranosyl(1→3)-β-D-fucopyranosyl-3β,16α,23,28-tetrahydroxy-olean-11,13(18)-dien-30-oic-acid-30-*O*-xylitol ester) (6) and saikosaponine v-2 (3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopy

ranosyl-(1→3)-β-D-fucopyranosyl-3β,16α,23,28-tetrahydroxy-olean-11,13(18)-dien-30-oic acid-30-*O*-xylitol ester) (7), isolated from *B. chinense* (Liang et al., 2001; Liu et al., 2001).

Compounds 1–3 were obtained as white amorphous powders. The sugar residues were identified by gas chromatography (GC) after acid hydrolysis and derivatization of each compound (see Experimental) (Hara et al., 1987) and 1D and 2D NMR spectroscopic analysis as β-D-glucopyranosyl (Glc) and α-L-rhamnopyranosyl (Rha) for the three compounds.

Compound 1 exhibited in its high-resolution electrospray mass spectrum (HR-ESI-MS) (positive-ion mode) a pseudo-molecular ion peak at *m/z* 1129.5868 [M + Na]⁺ (calcd. for C₅₄H₉₀O₂₃Na, 1129.5873) in accordance with a molecular formula of C₅₄H₉₀O₂₃. The ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectra of the aglycon part displayed resonances due to six methyl singlets at δ_H 0.90 (H₃-25), 0.91 (H₃-29), 0.99 (H₃-30), 1.02 (H₃-26), 1.07 (H₃-24) and 1.26 (H₃-27) showing correlations in the HSQC

spectrum with their corresponding carbons at δ_C 16.1 (C-25), 33.3 (C-29), 24.0 (C-30), 16.8 (C-26), 13.3 (C-24) and 27.0 (C-27) respectively. The HSQC spectrum showed one olefinic proton at δ_H 5.23 (br t, $J = 7.2$ Hz, H-12) which correlated with δ_C 122.6 (C-12) and one quaternary carbon at δ_C 143.8 (C-13), suggesting the presence of a double bond between C-12 and C-13 in the aglycon. This was confirmed by the HMBC correlation at δ_H/δ_C 1.26 (H₃-27)/143.8 (C-13). The HSQC cross peaks at δ_H/δ_C 3.73, 4.35 (H-23a, H-23b)/64.7 (C-23) and 3.67, 4.42 (H-28a, H-28b)/68.7 (C-28) were characteristic of two hydroxymethyl groups. The hydroxymethyl at the C-23 position was confirmed by the HMBC correlation at δ_H/δ_C 1.07 (H₃-24)/64.7 (C-23), 47.8 (C-5), 43.5 (C-4), 82.6 (Agly C-3). Two oxygen-bearing methine protons were observed at δ_H 4.10 (H-3) and at 4.61 (H-16). The relative configuration was determined by the ¹³C-NMR data and ROESY correlation. In particular, the ROESY correlations of δ_H 4.61 (H-16) with δ_H 1.26 (H₃-27) suggesting an α -axial orientation of H-16, thus a β -equatorial orientation of OH-16. While 3-OH was determined to be β -oriented from the ROESY correlation of δ_H 4.10 (H-3) with δ_H 1.53 (H-5). Thus, the aglycon of **1** was elucidated as 3 β ,16 β ,23,28-tetrahydroxyolean-12-ene, or 23-hydroxy-longispinogenin as in **4**, previously reported from other species of the genus *Bupleurum* (Tori et al., 1976). Furthermore, the HSQC spectrum of **1** displayed four anomeric signals at δ_H/δ_C 4.96 (d, $J = 7.3$ Hz)/103.9, 4.92 (d, $J = 7.7$ Hz)/104.9, 5.38 (d, $J = 7.6$ Hz)/105.5, 5.81 (s)/102.5, indicating the presence of four sugar units. Complete assignments of each sugar unit were achieved by extensive 1D and 2D NMR analyses and GC analysis after derivatization (see Experimental) allowing the characterization of three β -D-glucopyranosyl (GlcI, GlcII, GlcIII) and one α -L-rhamnopyranosyl (Rha). The HMBC correlations at δ_H/δ_C 4.96 (GlcI H-1)/82.6 (Agly C-3), 4.92 (GlcII H-1)/68.7 (GlcI C-6), 5.38 (GlcIII H-1)/82.7 (GlcI C-2) and 5.81 (Rha H-1)/78.5 (GlcI C-4) suggested the sequence GlcII-(1 \rightarrow 6)-[GlcIII-(1 \rightarrow 2)]-[Rha-(1 \rightarrow 4)]-GlcI-Aglycon, which was confirmed by HMBC correlations at δ_H/δ_C 4.10 (Agly H-3)/103.9 (GlcI C-1), 4.11 (GlcI H-2)/105.5 (GlcIII C-1), 4.07 (GlcI H-6)/104.9 (GlcII C-1), 4.25 (GlcI H-4)/102.5 (Rha C-1) and by the ROESY cross peaks at δ_H/δ_H 4.96 (GlcI H-1)/4.10 (Agly H-3), 4.92 (GlcII H-1)/4.07 (GlcI H-6), 5.38 (GlcIII H-1)/4.11 (GlcI H-2) and 5.81 (Rha H-1)/4.25 (GlcI H-4). Therefore, compound **1** was characterized as 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,23,28-tetrahydroxyolean-12-ene.

Compound **2** exhibited in the HR-ESI-MS (positive-ion mode) a pseudo-molecular ion peak at m/z 1127.5725 [$M + Na$]⁺ (calcd. for C₅₄H₈₈O₂₃Na, 1127.5716) compatible with the molecular formula C₅₄H₈₈O₂₃. The spectral data of the aglycon of compound **2** were similar to those of the aglycon of **1**, except for one obvious difference for the functional group at C-23. Indeed, detailed observation of the ¹³C-NMR spectrum revealed that the hydroxymethyl signal at δ_H 64.7 (C-23) of **1** disappeared in **2** and was replaced by a signal at δ_C 208.9 in **2**. This suggested a carbonyl function of an aldehyde group at C-23, which was proved by the HMBC correlation at δ_H/δ_C 1.39 (H₃-24)/46.7 (C-5), 54.9 (C-4) and 208.9 (C-23). The structure of the aglycon of **2** was thus recognized to be the 3 β ,16 β ,28-trihydroxy-23-oxoolean-12-ene. Extensive 2D NMR analysis confirmed the same sugar sequence as in compound **1**. On the basis of these results, the structure of compound **2** was elucidated as 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-23-oxoolean-12-ene.

Compound **3** exhibited in the HR-ESI-MS (positive-ion mode) a pseudo-molecular ion peak at m/z 981.5142 [$M + Na$]⁺ (calcd. for C₄₈H₇₈O₁₉Na, 981.5137) compatible with the molecular formula C₄₈H₇₈O₁₉. The ¹H-NMR and ¹³C-NMR signals of the aglycon part of **3** are almost superimposable to those of the aglycon of **1** and **2**, except the presence of a carboxylic function at C-23 in **3** (δ_C 183.1). This was confirmed by the HMBC cross peak at δ_H/δ_C 1.60 (H₃-24)/183.1 (C-23), and the structure of the aglycon of compound **3** was determined to be 3 β ,16 β ,28-trihydroxyolean-12-ene-23-oic acid. The ¹H and ¹³C NMR

signals of the oligosaccharidic chain of **3** were almost similar with those of **1** and **2** except the disappearance of the characteristic signals of the terminal GlcIII in **1** and **2**. This was confirmed by the extensive 2D NMR analysis showing the presence of the signals at δ_H 3.84 (GlcI H-2) and δ_C 75.0 ppm (Glc I C-2) characteristic of a free hydroxyl function at C-2 of Glc-I. Consequently, compound **3** was characterized as 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxyolean-12-ene-23-oic acid.

The distribution and structure characters of saponins in plants are significant for the classification and chemotaxonomy (Yang and Li, 1996). To date, there are more than 100 saikosaponins isolated from the genus *Bupleurum* including five saikosaponins from *B. spinosum* (Barrero et al., 2000). In this study, seven triterpene saponins (**1**–**7**) were isolated and characterized from the roots of *B. spinosum*, including three undescribed ones (**1**–**3**). Nepasaikosaponin K (**4**), chikosaikoside II (**5**), saikosaponine v-1 (**6**), saikosaponine v-2 (**7**) were previously reported exclusively in the genus *Bupleurum*: *B. marginatum* and *B. falcatum* for **4** (Ishiguro et al., 2001; Fang et al., 2017), *B. longeradiatum* for **5** (Kimata et al., 1982), and *B. chinense* (**6**, **7**) (Liang et al., 2001; Liu et al., 2001). Thus, the presence of compounds **4**–**7** indicated the close chemotaxonomic relationship between *B. spinosum* and other *Bupleurum* species.

All isolated saponins are monodesmosidic compounds different by their aglycones and the nature of C-3 osidic sequence. To the best of our knowledge, the sequence GlcII-(1 \rightarrow 6)-[GlcIII-(1 \rightarrow 2)]-[Rha-(1 \rightarrow 4)]-Glc, found in the two undescribed compounds (**1**, **2**) has never been previously reported, whereas the sequence GlcII-(1 \rightarrow 6)-[Rha-(1 \rightarrow 4)]-Glc, common to this family, was found in the undescribed compound (**3**) and two known compounds (**4** and **5**). Compounds **1**–**3** shared the same oleanane-type skeleton for the aglycon, the key difference being the functional group at C-23, which is a hydroxymethyl in **1**, an aldehyde in **2**, and a carboxyl in **3**. Compounds **2** and **3** are the first examples found in saikosaponins bearing a carbonyl group at C-23, and can be considered as chemical markers for the taxonomy of *B. spinosum*, whereas those with an hydroxymethyl group at C-23 were common (Barrero et al., 2000; Sánchez Contreras et al., 2002).

In conclusion, the saponins isolated from *B. spinosum* are characterized by different aglycons related to 23-hydroxy-longispinogenin (**1**–**4**), saikogenin F (**5**), and olean-11,13(18)-diene (**6** and **7**), and different sugar moieties linked to C-3 of the aglycon, containing glucose and rhamnose (**1**–**5**), and fucose and glucose (**6**–**7**). Therefore, the results of this study corroborated with those obtained by Barrero et al. (2000), enriching the phytochemical diversity of *B. spinosum* and reinforcing the view that saikosaponins are the major constituents of the genus *Bupleurum*, in which the oleanane-type is predominant.

3. Experimental

3.1. General

Optical rotation values were recorded on a AA-10R automatic polarimeter (Optical activity LTD). The 1D and 2D spectra of compounds **2**–**7** (¹H and ¹³C-NMR, 1H-1H COSY, TOCSY, ROESY, HSQC and HMBC) were performed using a Varian INOVA 600 (Agilent Technologies) at the operating frequency of 600 MHz. The NMR spectra of compound **1** were measured on a Bruker AV-400 equipped with a 5 mm dual probe at 298 K. Pulse sequences are taken from Bruker pulse sequence library. Spectra are referenced with respect to residual solvent signals. HR-ESI-MS (positive-ion mode) were carried out on a Bruker micrOTOF II mass spectrometer. GC analysis was carried out on a Thermoquest gas chromatograph. Isolations were carried out using vacuum liquid chromatography (VLC) on reversed-phase RP-18 silica gel (75–200 μ m, Silicycle) and silica gel 60 (Merck, 60–200 μ m) and medium-pressure liquid chromatography (MPLC) on reversed-phase RP-18 silica gel (75–200 μ m, Silicycle) and silica gel 60 (Merck, 15–40 μ m) [Alltech pump, Büchi column (460 \times 15 mm and 230 \times 15 mm), Büchi precolumn (110 \times 15 mm)]. Thin-layer chromatography (TLC, silicycle) and high-

Table 1¹H-NMR (600 MHz) and ¹³C-NMR (150 MHz) spectroscopic data of the aglycons of compounds **1–3** in C₅D₅N (δ in ppm and J in Hz)^a.

	1		2		3	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
1	38.7	0.97, 1.49 m	39.7	0.95 - 1.54 m	38.9	1.10, 1.52 m
2	26.0	1.80, 2.78 m	24.7	1.84, 2.77 m	26.0	1.78, 2.76 m
3	82.6	4.10	83.2	4.04	86.0	4.67
4	43.5	-	54.9	-	53.7	-
5	47.8	1.53	46.7	1.62	51.8	2.00 d (11.1)
6	18.1	1.32, 1.69	nd	nd	21.6	1.58, 1.68
7	32.5	1.32, 1.62	32.0	1.18, 1.44	32.5	1.18, 1.68
8	40.1	-	40.1	-	41.5	-
9	47.1	1.65	47.6	1.32	47.0	1.72
10	36.5	-	36.0	-	36.5	-
11	23.8	1.82	23.5	1.84	23.8	1.95
12	122.6	5.23 t like (3.7)	122.1	5.26 t	122.4	5.24 t
13	143.8	-	144.5	-	143.7	-
14	43.7	-	43.5	-	44.1	-
15	36.7	1.86, 2.22	35.7	1.72, 2.19	36.2	1.66, 2.15
16	66.5	4.61	66.3	4.65	66.3	4.60 dd (11.7, 6.0)
17	40.9	-	40.7	-	40.7	-
18	44.3	2.39 dd (13.7, 4.6)	44.0	2.41 dd (14.0, 4.6)	44.1	2.38 dd (13.4, 4.6)
19	47.0	1.16 m, 1.86	47.0	1.20 m, 1.86	46.8	1.18 m, 1.82
20	31.0	-	30.8	-	31.0	-
21	34.2	1.28, 1.60	33.9	1.30, 1.68	34.0	1.28, 1.64
22	26.1	1.94m, 2.30 m	25.7	1.90 m, 2.22 m	26.1	1.85 m, 2.20 m
23	64.7	3.73, 4.35	208.9	-	183.1	-
24	13.3	1.07 s	10.5	1.39 s	13.0	1.60 s
25	16.1	0.90 s	15.5	0.83 s	15.9	0.89 s
26	16.8	1.02 s	16.5	0.95 s	16.6	0.96 s
27	27.0	1.26 s	26.9	1.30 s	27.0	1.30 s
28	68.7	3.67, 4.42	68.2	3.69 d (10.5), 4.40 d (10.5)	68.2	3.67 d (10.5), 4.38 d (10.5)
29	33.3	0.91 s	33.1	0.95 s	33.1	0.90 s
30	24.0	0.99 s	23.8	1.01 s	23.8	0.99 s

^aOverlapped signals are reported without designated multiplicity; nd: not determined; s: singlets; d: doublet; dd: double doublet; t: triplet; m: multiplet.

performance thin-layer chromatography (HPTLC, Merck) were carried out on precoated silica gel plates 60F₂₅₄, solvent system: CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5 and 60:32:7. The spray reagent for saponins was vanillin reagent (1% vanillin in EtOH/H₂SO₄, 50:1).

3.2. Plant material

The roots of *B. spinosum* were collected, in Tirourda pass in Djurdjura Mountain (Algeria), in March 2019 and authenticated by Pr D. Smati, a botanist of the Department of Pharmacy, University of Algiers (Algeria), where one voucher specimen (N° 201904) was deposited.

3.3. Extraction and isolation

Air-dried finely powdered roots of *B. spinosum* (100 g) were submitted to an ultrasound assisted extraction three times for 30 min with EtOH/H₂O 75 : 35 (3 x 1000 ml). After evaporation of the solvent under vacuum, a residue of 23 g was obtained. An aliquot of 10 g was submitted to a VLC on reversed-phase RP-18 silica gel (H₂O/MeOH 100:0, 50:50 and 0:100) to give three fractions (F1, 2 g; F2, 3.6 g; F3, 1.63 g). F2 was fractionated by VLC on silica gel 60 (CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7 and 64:40:8), yielding five subfractions (SF1, 1 g; SF2, 643 mg; SF3, 601 mg; SF4, 744 mg; SF5, 288.4 mg). SF4 and SF5 were subjected to MPLC (silicagel 60, CHCl₃/MeOH/H₂O 80:20:2, 70:30:5 and 60:30:7) to give different subfractions (SF44, 60 mg; SF45, 60 mg;

Table 2¹H-NMR (600 MHz) and ¹³C-NMR (150 MHz) spectroscopic data of the sugar moieties of compounds **1–3** in C₅D₅N (δ in ppm and J in Hz)^a.

		1		2		3	
		δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
3-O-Glc I	1	103.9	4.96 d (7.3)	102.4	4.73 d (7.6)	104.9	5.05 d (7.6)
	2	82.7	4.11	81.2	4.05	75.0	3.84 t (9.0)
	3	76.5	4.06	75.8	4.08	76.0	4.03
	4	78.5	4.25	77.9	4.20	79.2	4.20
	5	74.8	3.67	75.0	3.75 m	74.7	3.71 m
	6	68.7	4.07, 4.55	68.2	4.08, 4.60	68.3	4.02, 4.54 dd (11.1, 1.1)
Glc II	1	104.9	4.92 d (7.7)	104.4	4.94 (7.6)	104.5	4.90 d (7.6)
	2	74.7	4.04	74.4	4.04	74.5	4.00
	3	78.0	4.23	77.9	4.26	77.7	4.20
	4	71.3	4.19	71.0	4.14 m	71.1	4.14 t (8.7)
	5	78.4	3.86 m	77.7	3.92 m	78.0	3.88
	6	62.7	4.32, 4.47	62.2	4.29, 4.48	62.2	4.29, 4.46
Glc III	1	105.5	5.38 d (7.6)	104.3	5.31 d (7.8)		
	2	76.7	4.12	75.5	4.09		
	3	78.3	4.20	77.9	4.20		
	4	71.6	4.29	71.1	4.28		
	5	78.3	3.92 m	77.7	3.97		
	6	62.5	4.34, 4.51	62.2	4.31, 4.56		
Rha	1	102.5	5.81br s	102.2	5.72 br s	102.5	5.72 s
	2	72.3	4.66	71.9	4.78 br s	72.0	4.65
	3	72.6	4.46	72.0	4.50	72.0	4.46
	4	73.7	4.29	73.3	4.31	73.3	4.30
	5	70.3	4.75 dq	70.2	4.72 m	70.2	4.70
	6	18.4	1.61 d (6.3)	18.1	1.61 d (5.8)	18.1	1.62 (6.4)

^aOverlapped signals are reported without designated multiplicity; nd: not determined; s: singlets; d: doublet; dd: double doublet; t: triplet; m: multiplet.

SF54, 19 mg; SF55, 150 mg). They were purified by successive MPLC (RP-18, MeOH/H₂O 30/70 → 100:0) yielding **3** (3.9 mg) and **7** (7 mg) from SF44, whereas **4** (3 mg) and **5** (10 mg) from F45, **6** (5 mg) from F54, **2** (3 mg), **3** (3.5 mg), and **1** (17 mg) from F55.

3.4. Compound characterization

3.4.1. 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α-L-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-D-glucopyranosyl -3β,16β,23,28-tetrahydroxyolean-12-ene (**1**)

White amorphous powder; [α]_D²⁰-40.2° (MeOH; c 0.1); ¹H-NMR (C₅D₅N, 600 MHz) and ¹³C-NMR (C₅D₅N, 150 MHz), see [Tables 1 and 2](#); HR-ESI-MS (positive-ion mode): *m/z* 1129.5868 [M + Na]⁺. (calcd. For C₅₄H₉₀O₂₃Na, 1129.5873).

3.4.2. 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α-L-rhamnopyranosyl(1→4)]-β-D-glucopyranosyl -3β,16β,28-trihydroxy-23-oxoolean-12-ene (**2**)

White amorphous powder; [α]_D²⁰-25.2° (MeOH; c 0.1); ¹H-NMR (C₅D₅N, 600 MHz) and ¹³C-NMR (C₅D₅N, 150 MHz), see [Tables 1 and 2](#); HR-ESI-MS (positive-ion mode): *m/z* 1127.5725 [M + Na]⁺. (calcd. For C₅₄H₈₈O₂₃Na, 1127.5716).

3.4.3. 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-3 β ,16 β ,28-trihydroxy-olean-12-ene-23-oic-acid (3)

White amorphous powder; $[\alpha]_D^{20}$ -28.2° (MeOH; c 0.1); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz) and $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz), see Tables 1 and 2; HR-ESI-MS (positive-ion mode): m/z 981.5142 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. (calcd. For $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{19}\text{Na}$, 981.5137).

3.5. Acid hydrolysis and GC analysis

Each compound (3 mg) was hydrolyzed with 2 N aq. CF_3COOH (5 mL) for 3 h at 95 °C. After extraction with CH_2Cl_2 (3 \times 5 ml), the aq. layer was repeatedly evaporated to dryness with MeOH until neutral, and then analyzed by TLC over silica gel ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 8:5:1) by comparison with authentic samples. Furthermore, the residue of sugars was dissolved in anhydrous pyridine (100 μl), and L-cysteine methyl-ester hydrochloride (0.06 mol/l) was added. The mixture was stirred at 60 °C for 1 h, then 150 μl of HMDS-TMCS (hexamethyldisilazane/trimethylchlorosilane 3:1) was added, and the mixture was stirred at 60 °C for another 30 min. The precipitate was centrifuged off, and the supernatant was concentrated under a N_2 stream. The residue was partitioned between n-hexane and H_2O (0.1 ml each), and the hexane layer (1 μl) was analyzed by GC (DB-1701 capillary column (30 m \times 0.25 mm, i.d.) (J and W Scientific) with detection by FID, detector temperature, 250 °C, injection temperature, 230 °C; initial temperature was maintained at 80 °C for 5 min and then raised to 270 °C at 15 °C/min; carrier gas, He) (Hara et al., 1987). The absolute configurations were determined by comparing the retention times with thiazolidine derivatives prepared in a similar way from standard sugars (Sigma-Aldrich). L-rhamnose and D-glucose were characterized by co-injection of the silylated derivatives with standard silylated samples having t_R 13.1 min (L-rhamnose) and 18.6 min (D-glucose).

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

This work was supported by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research who provided a fellowship to Amina Dahmoune.

References

Ashour, M.L., Michael, W., 2011. Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. *J. Pharm. Pharmacol.* 63, 305–321.

- Barrero, A.F., Haïdour, A., Munoz-Dorado, M., Akssira, M., Sedqui, A., Mansour, I., 1998. Polyacetylenes, terpenoids and flavonoids from *Bupleurum spinosum*. *Phytochemistry* 48, 1237–1240.
- Barrero, A.F., Haïdour, A., Sedqui, A., Ibn Mansour, A., Rodriguez-Garcia, I., Lopez, A., Munoz-Dorado, M., 2000. Saikosaponins from roots of *Bupleurum gibraltarium* and *Bupleurum spinosum*. *Phytochemistry* 54, 741–745.
- Chelghoum, M., Smati, D., Mitaine-Offer, A.C., Paululat, T., Lacaille-Dubois, M.-A., 2018. Four new triterpene saponins from *Bupleurum rigidum* L. *Phytochem. Lett.* 27, 223–228.
- Cheng, P.W., Ng, L.T., Chiang, L.C., Lin, C.C., 2006. Antiviral effects of saikosaponins on human coronavirus 229E in vitro. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 33, 612–616.
- Ding, J.K., Fujino, H., Kasai, R., Fujimoto, N., Tanaka, O., Zhou, J., Matsuura, H., Fuwa, T., 1986. Chemical evaluation of *Bupleurum* species collected in Yunnan, China. *Chem. Pharm. Bull.* 34, 1158–1167.
- Fang, W., Yang, Y.J., Guo, B.L., Cen, S., 2017. Anti-influenza triterpenoid saponins (saikosaponins) from the roots of *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27, 1654–1659.
- Giner, R.M., Villalba, M.L., Recio, M.C., Manez, S., Cerdà-Nicolàs, M., Ríos, J., 2000. Anti-inflammatory glycoterpenoids from *Scrophularia auriculata*. *Eur. J. Pharmacol.* 389, 243–252.
- Hara, S., Okabe, H., Mihashi, K., 1987. Gas-liquid chromatographic separation of aldose enantiomers as trimethylsilyl ethers of methyl 2-(polyhydroxyalkyl)-thiazolidine-4(R)-carboxylates. *Chem. Pharm. Bull.* 35, 501–506.
- Kimata, H., Kasai, R., Tanaka, O., 1982. Saponins of Juk-Siho and roots of *Bupleurum longiradiatum* Turcz. *Chem. Pharm. Bull.* 30, 4373–4377.
- Ishiguro, H., Takeuchi, M., Namera, A., Watanabe, T., Isoda, S., Malla, K.J., Takano, A., Kohda, H., 2001. Studies on medicinal plant resources of the Himalayas(4), chemical evaluation of *Bupleurum falcatum* var. *gracillimum* collected in Nepal. *Nat. Med.* 55, 55–60.
- Lacaille-Dubois, M.-A., 2013. Newest results of the chemistry and pharmacology of triterpene and steroid saponins containing TCM-drugs. In: Wagner, H., Ulrich-Merzenich, G. (Eds.), *Evidence and Rational Based Research on Chinese Drugs*. Springer-Verlag, Wien, pp. 87–135.
- Li, X.Q., Song, Y.N., Wang, S.J., Rahman, K., Zhu, J.Y., Zhang, H., 2018. Saikosaponins: a review of pharmacological effects. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 20, 1–13.
- Liang, H., Cui, Y.J., Zhao, Y.Y., Wang, B., Yang, W.X., Yu, Y., 2001. Saikosaponin v-2 from *Bupleurum chinense*. *Chin. Chem. Lett.* 12, 331–332.
- Liu, Q.X., Liang, H., Zhao, Y.Y., Wang, B., Yang, W.X., Yu, Y., 2001. Saikosaponin v-1 from roots of *Bupleurum Chinense* DC. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 3, 139–144.
- Pan, S.L., 2006. *Bupleurum* species: Scientific Evaluation and Clinical Applications. CRC Press.
- Quézel, P., Santa, S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
- Sánchez Contreras, S., Díaz Lanza, A.M., Bernabé Pajares, M., Bartolome Esteban, C., Villacusa Castillo, L., Abad Martínez, M.J., Bermejo Benito, P., Fernandez Matellano, L., 2002. Bioactive components of *Bupleurum rigidum* L. subsp. *rigidum*. In: Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Product Chemistry*, vol. 27. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 659–696.
- Tori, K., Seo, S., Yoshimura, Y., Nakamura, M., Tomita, Y., Ishii, H., 1976. Carbon-13 NMR spectra of saikosaponins A, C, D and F isolated from *Bupleurum falcatum* L. *Tetrahedron Lett.* 46, 4167–4170.
- Yang, C.-R., Li, X.-C., 1996. Bioactive triterpenoid and steroid saponins from medicinal plants in southwest China. In: Walter, G., Yamasaki, K. (Eds.), "Saponins used in Traditional and Modern Medicine", *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 404. Plenum Press, New York, pp. 225–238.

Résumés

يعتبر البحث عن المكونات النشطة المستخرجة من النباتات ذا أهمية قصوى لأنه مكن من تطوير الأدوية الأساسية. تشتهر الجزائر بمواردها الطبيعية، ولديها نباتات غنية ومتنوعة بشكل فريد، و تقاليد تعود إلى قرون في دستور الأدوية التقليدي. في العمل الحالي، تم إجراء دراسة نباتية عرقية على النباتات ذات الخصائص العلاجية والمستخدمه بشكل شائع بين السكان البربر في الجزائر وأظهرت اهتماما للعلاج بالنباتات و ثراء النباتات الطبية الجزائرية.

Bupleurum spinosum Gouan و *Asphodelus tenuifolius* Cav. ، نباتان تم اختيارهما بناءً على نهجين بحثيين للمركبات النشطة بيولوجياً: علم النبات العرقي وعلم الكيمياء، كانا موضوع دراسة نباتية لتحديد علمي دقيق، دراسة كيميائية تتضمن فحص المجموعات الكيميائية الرئيسية الموجودة في النباتين وعزل وتنقية وتحديد المركبات الكيميائية الطبيعية، ودراسة بيولوجية لاكتشاف الخصائص الدوائية المثيرة للاهتمام.

تم إجراء عزل المركبات النشطة بيولوجيا باستخدام تقنيات كروماتوجرافيك وتركيبها الكيميائي الذي تم توضيحه بواسطة تقنيات التحليل الطيفي (التحليل الطيفي الكتلي ، D1 و D2 NMR). تم عزل ثلاثة عشر مركباً وتحديدها من A. *tenuifolius* و *B. spinosum* ، أربعة منها كانت جديدة (saponins).

تم اختبار الخصائص البيولوجية للمستخلصات في المختبر من خلال الاختبارات البيولوجية القياسية وكشفت عن أنشطة مثيرة للاهتمام كمضادات الأكسدة والبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: علم النبات العرقي، *Bupleurum spinosum* Gouan، *Asphodelus tenuifolius* Cav. المركبات النشطة بيولوجياً، صابونين ترتيربان ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا.

RÉSUMÉ

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. L'Algérie connue par ses ressources naturelles dispose d'une flore singulièrement riche et variée, et d'une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle. Dans le présent travail, Une étude ethnobotanique sur les plantes à propriétés thérapeutiques et couramment utilisées traditionnellement a été réalisée auprès de la population berbère d'Algérie et a montré l'intérêt de la phytothérapie et la richesse de la flore médicinale algérienne. *Asphodelus tenuifolius* Cav. et *Bupleurum spinosum* Gouan, deux plantes sélectionnées à base de deux approches de recherche des composés bioactifs : l'ethnobotanique et la chimiotaxonomie, ont fait l'objet d'une étude botanique pour une identification scientifique exacte, d'une étude chimique incluant un screening des principaux groupes chimiques présents dans les deux plantes, et l'isolement, la purification et l'identification de composés chimiques naturels, et d'une étude biologique pour déceler des propriétés pharmacologiques intéressantes.

L'isolement des composés bioactifs a été réalisé à l'aide de techniques chromatographiques et l'élucidation de leurs structure chimique a été faite par des techniques spectroscopiques (spectroscopie de masse, RMN 1D et 2D). Treize composés ont été isolés et identifiés d'*A. tenuifolius* et de *B. spinosum*, dont quatre étaient nouveaux (saponines).

Les propriétés biologiques des extraits ont été testées in vitro par des tests biologiques classiques et ont révélé des activités anti-oxydantes et antibactériennes intéressantes.

Mots clefs : Ethnobotanique, *Asphodelus tenuifolius* Cav., *Bupleurum spinosum* Gouan, composés bioactifs, saponines triterpéniques, activité anti-oxydante, activité antibactérienne.

ABSTRACT

The search for active principles extracted from plants is of capital importance because it has enabled the development of essential drugs. Algeria, known for these natural resources, has a singularly rich and varied flora and a secular tradition of traditional pharmacopoeia. In the present work, an ethnobotanical study on plants with therapeutic properties and commonly used traditionally was carried out among the Berber population of Algeria and showed the interest of phytotherapy and the richness of the Algerian medicinal flora. *Asphodelus tenuifolius* Cav. and *Bupleurum spinosum* Gouan, two plants selected based on two research approaches for bioactive compounds: ethnobotany and chemotaxonomy, have been the subject of a botanical study for an exact scientific identification, a chemical study including a screening of the main chemical groups present in both plants, and the isolation, purification and identification of naturally occurring chemical compounds, and a biological study to detect interesting pharmacological properties.

The isolation of the bioactive compounds was carried out using chromatographic techniques and the elucidation of their chemical structure was done by spectroscopic techniques (mass spectroscopy and 1D and 2D NMR). Thirteen compounds have been isolated and identified from *A. tenuifolius* and *B. spinosum*, four of which were new (saponins).

The biological properties of the extracts were tested in vitro by standard biological tests and revealed interesting antioxidant and antibacterial activities.

Keywords: Ethnobotany, *Asphodelus tenuifolius* Cav., *Bupleurum spinosum* Gouan, Bioactive compounds, triterpene saponins, antioxidant activity, antibacterial activity.