

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

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

N° d'ordre :
Série :

THESE: Présentée en vue de l'obtention du diplôme du
Doctorat troisième cycle (LMD)

Spécialité: Chimie pharmaceutique

INTITULÉ:

*Investigation phytochimique et biologique de
l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* Coss. et
Dur. Maire.
et
Synthèse catalytique de nouveaux dérivés julolidines*

Par
M^{me} Amira LABED
Epouse KHERRAB

Devant le jury :

Pr. Zahia KABOUCHE	(U. des frères Mentouri-Constantine)	Présidente
Pr. Ahmed KABOUCHE	(U. des frères Mentouri-Constantine)	Promoteur
Pr. Salah AKKAL	(U. des frères Mentouri-Constantine)	Examineur
Pr. Noureddine AOUF	(U. Badji Mokhtar-Annaba)	Examineur
Pr. Abdelmalik BELKHIRI	(U. Constantine 3-Constantine)	Examineur

Soutenue le 5 Mai 2016

Dédicaces

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, je dédie ce travail à mes chers parents Sakina et Abdelhafid qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite. J'espère qu'un jour je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête bonheur et longue vie

A mon époux, Issam

Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer ce travail

A ma fille Miral

A mes très chères sœurs et leurs époux source de tendresse et de soutien, Ilhem et Abdou, Nouha, Mouna et Amine, Ikhlâs et Brahim, Dounia.

A mes belles nièces : Loudjeïne et Mayar

A mes tantes et mes oncles particulièrement Radia et Fateh

A ma belle-mère et mon beau-père pour leur amour et leur affection

A mes belles-sœurs surtout Amel pour son amour et ses conseils

A mes beaux-frères en particulier Mourad

A tous mes amis et collègues

Amira

Remerciements

*Tout d'abord, je tiens à remercier **Dieu** Le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience durant ce travail.*

*Je tiens particulièrement à remercier madame la professeure **Zahia KABOUCHE** la directrice de laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques pour m'avoir fait confiance et m'avoir encouragé.*

*Je me sentirais coupable d'ingratitude si je ne remerciais pas le professeur **Ahmed KABOUCHE**, qui a très volontiers accepté d'être le promoteur de ce travail; sa grande connaissance dans le domaine; ainsi que son expérience, ont joué un rôle important dans l'élaboration de ce travail.*

*J'ai eu la chance d'effectuer une partie de ce travail de recherche dans le laboratoire de catalyse et organométallique de l'université de Rennes1, sous la direction du docteur **Christian BRUNEAU**.*

Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour m'avoir accueillie au sein du son laboratoire, pour m'avoir fait confiance et m'avoir permis de réaliser ce travail dans de meilleures conditions tout en me laissant une grande liberté, pour son soutien, sa gentillesse et sa grande générosité.

*J'adresse mes sincères remerciements à monsieur **Mathieu ACHARD** docteur de l'université de Rennes 1, pour ses efforts, son soutien, sa disponibilité, sa compétence, ses conseils et pour toute l'attention qu'il m'a porté.*

*J'associe volontiers, les professeurs **Salah AKKAL** de l'université des frères Mentouri Constantine et **Noureddine AOUF** de l'université de Badji Mokhtar Annaba, **Abdelmalik BELKHIRI** de l'université Constantine 3 d'avoir bien voulu juger ce travail.*

*Je voudrais remercier Madame la Professeure **Semra ZAHIA** et Monsieur le professeur **Kadour BELABED**, pour m'avoir accueillie dans le laboratoire de bactériologie (CHU Benbadis Constantine, Algérie).*

*Mes remerciements vont aussi à **Maria FERHAT** pour son aide dans la réalisation de l'activité antioxydante et j'aimerais également remercier Madame la professeure **Sakina ZERIZER** pour son aide dans la réalisation de l'activité immunomodulatrice.*

*J'adresse mes plus sincères remerciements à mes chers parents **Abdelhafid** et **Sakina**, qui m'ont entouré de leur affection, pour leur dévouement, leur présence au cours de toutes ces années, en espérant que ce travail sera mérite de leurs espoirs et de leur confiance.*

*Je remercie très chaleureusement mon mari **Issam**, qui m'a encouragé et m'a soutenu pendant la réalisation de ce travail.*

*Je remercie en particulier ma sœur **Ilhem** ma meilleure amie et ma collègue d'étude durant les 12 ans passés, pour son soutien moral, son aide, ses encouragements. Nous avons partagé chaque instant du travail émerveillements mais toujours avec passion et bonne humeur.*

*Je remercie l'ensemble de l'équipe de recherche pour leur sympathie et leur expérience, sans oublier **Kacem** et l'ingénieur **Hichem SERRAA** pour sa disponibilité et sa gentillesse.*

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail.

*Pour clôturer ces remerciements, je tiens à remercier ma famille qui m'a soutenue et supportée pendant cette thèse. Merci mes sœurs, mes tantes particulièrement **Radia**, mes oncles surtout **Fateh**. À mes beaux-parents, belles-sœurs surtout **Amel**, et beaux-frères en particulier **Mourad**. Merci pour votre aide et votre patience.*

TABLE DES MATIÈRES

PARTIE 1:

ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET

BIOLOGIQUE DE L'ESPÈCE

Astragalus armatus ssp. numidicus (Coss. et Dur.) M.

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
----------------------------	---

SOUS-PARTIE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: Aperçu bibliographique sur le genre

Astragalus

I.1. Les Fabacées.....	3
I.1.1. Généralités	3
I.1.2. Répartition géographique des Fabacées	3
I.1.3. Classification	4
I.1.4. Importance des Fabacées	5
I.2. Le genre <i>Astragalus</i>	6
I.2.1. Introduction	6
I.2.2. Historique	6
I.2.3. Description botanique	6
I.2.4. Répartition géographique du genre <i>Astragalus</i>	7
I.2.5. Utilisation en médecine traditionnelle.....	7
I.2.6. Toxicité du genre <i>Astragalus</i>	8
I.2.6.1. Astragales non toxiques	8
I.2.6.2. Astragales toxiques	8

I.2.7. Caractères chimiques du genre <i>Astragalus</i>	9
I.2.7.1. Saponines	9
I.2.7.2. Flavonoïdes	10
I.2.8. Travaux antérieurs sur le genre <i>Astragalus</i>	11
I.2.8.1. Cycloartane triterpénoïdes.....	11
I.2.8.1-a. Cycloastragénol.....	12
I.2.8.1-b. Cyclogalagénines	12
I.2.8.1-c. Cyclocanthogénines	12
I.2.8.1-d. Cyclocéphalogénines	12
I.2.8.1.e. Eremophiloside.....	12
I.2.8.1.f. Sécocycloartane saponine et sapogénine	12
I.2.8.2. Lanostanes.....	12
I.2.8.3. Saponines oléananes ou oléananes	13
I.2.8.4. Autres triterpènes	13
I.2.8.5. Flavonoïdes.....	29
I.2.8.5.a. Flavones.....	29
I.2.8.5.b. Flavonols	29
I.2.8.5.c. Isoflavonoïdes.....	29
I.3. L'espèce <i>Astragalus armatus</i>	38
I.3.1. Place dans la systématique	38
I.3.2. Description botanique.....	38
I.3.3. Répartition géographique.....	39
I.3.4. Utilisation en médecine traditionnelle	39
I.3.5. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Astragalus armatus</i>	39

CHAPITRE II: ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

II.1. Activités biologiques du genre <i>Astragalus</i>	40
II.2. Activité antioxydante.....	41
II.2.1. Introduction.....	41
II.2.2. Les radicaux libres.....	41
II.2.3. Définition d'un antioxydant.....	42

II.5.4. Division des antioxydants.....	42
II.2.4.1. Antioxydants d'origine naturelle	42
II.2.4.1-a. Vitamine E.....	42
II.2.4.1- b. Vitamine C.....	43
II.2.4.1.-c. Caroténoïdes.....	43
II.2.4.1.-d. Polyphénols.....	43
II.2.4.2. Antioxydants de synthèse.....	44
II.2.5. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	45
II.2.5.1. Test ABTS.....	45
II.2.5.2. Test DPPH.....	46
II.2.5.3. Test FRAP.....	46
II.2.5.4. Test CUPRAC.....	47
II.3 Activité antibactérienne.....	48
II.3.1. Introduction.....	48
II.3.2. Définition de l'activité antibactérienne.....	48
II.3.3. Test de sensibilité aux antibiotiques : L'antibiogramme.....	48
II.3.4. Définition de la CMI (concentration minimale inhibitrice).....	49
II.3.5. Choix des bactéries.....	49
II.4. Activité immunomodulatrice.....	50
II.4.1. Généralités.....	50
II.4.2. Organes du système immunitaire.....	51
II.4.3. Immunomodulateurs.....	51
II.4.3.1. Immunoajuvants.....	51
II.4.3.2. Immunostimulants.....	52
II.4.3.3. Immunosuppresseurs.....	52
II.4.4. Facteurs immunomodulateurs.....	52
II.4.5. Méthodes pour tester les facteurs immunologiques.....	52

SOUS-PARTIE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE I: Matériel végétal et purification

I.1. Matériel végétal.....	54
----------------------------	----

I.2. Extraction.....	54
I.3. Purification.....	55
I.3.1. Fractionnement et purification de la fraction AcOEt de l'espèce <i>A. armatus</i>	56
I.3.2. Fractionnement et purification de la fraction <i>n</i> -butanolique d' <i>A. armatus</i>	58
I.3.2.1. Etude de la fraction B ₈ +B ₉	59
I.3.2.2. Etude de la sous fraction S ₈	60
I.3.2.3. Etude de la fraction B ₁₃	60
I.3.2.4. Etude de la fraction B ₁₅	61

CHAPITRE II: Activités biologiques

II.1. Évaluation du potentiel anti-radicalaire.....	63
II.1.1. Test du radical cation, l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) (ABTS ^{•+})	63
II.1.2. Test du 2,2-diPhényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH).....	64
II.1.3. Chélation des ions ferreux.....	65
II.1.4. Capacité antioxydante de réduction cuprique (CUPRAC).....	65
II.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	66
II.2.1. Identification des souches.....	66
II.2.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme).....	66
II.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	67
II.2.3.1. Préparation de l'inoculum.....	67
II.2.3.2. Préparation de la gamme de concentration des fractions.....	67
II.2.3.3. Lecture.....	67
II.3. Mise en évidence de l'activité immunomodulatrice.....	68
II.3.1. Animaux.....	68
II.3.2. Activité phagocytaire.....	68
II.3.3 Analyse statistique.....	69

SOUS-PARTIE 3: RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE I : Détermination structurale des produits isolés

I.1 Détermination structurale des produits obtenus.....	70
I.1.1. Détermination structurale du composé P ₁	70
I.1.2. Détermination structurale du composé P ₂	73
I.1.3. Détermination structurale du composé P ₃	79
I.1.4. Détermination structurale du composé P ₄ , P ₅ et P ₆	86
I.1.4-a. Détermination structurale du composé P ₄	86
I.1.4-b. Détermination structurale du composé P ₅	87
I.1.4-c. Détermination structurale du composé P ₆	88

CHAPITRE II: Activités biologiques

II.1. Activité antioxydante.....	96
II.2. Activité antibactérienne.....	97
II.3. Activité immunomodulatrice.....	101
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	103
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	104

PARTIE 2:
SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS JULOLIDINIQUES
VIA AUTOTRANSFERT D'HYDROGÈNE

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	135
-----------------------------------	------------

CHAPITRE I: Aperçu bibliographique

I. Introduction.....	137
I.1. Réactions de transfert d'hydrogène dans la synthèse des molécules hétérocycliques.....	138
I.1.1. N-Alkylation de l'aniline avec les alcools primaires utilisant la silicone et l'oxyde d'aluminium.....	138
I. 1.2. C-alkylation des arylacétonitriles par des alcools.....	138
I.1.3. N-alkylation et N-hétérocyclisation de l'aniline en utilisant des alcools et des aldéhydes catalysées par le ruthénium.....	139
I.1.4. N-alkylation et N-benylation des aminoarènes avec des alcools catalysées par le ruthénium.....	139
I.1.5. Réaction de transfert d'hydrogène catalysée par le complexe [IrCp*].....	140
I.1.6. Activation des alcools.....	140
I.1.7. N-alkylation du 2- (pipérazinyl) pyrimidine avec un groupe benzo [d] [1,3] dioxole-5-ylméthanol utilisant le [RuCl ₂ (<i>p</i> -cymène)] ₂	141
I.1.8. Synthèse sélective des amines secondaires et tertiaires catalysée par [IrCp*], multialkylation de sels d'ammonium avec des alcools.....	141
I.1.9. Cyclisation du 1,2-ethanodiamine avec du 1,2-diols en utilisant IRu ₃ (CO) ₁₂ : Synthèse de pipérazines substituées.....	142
I.1.10. N-hétérocyclisation de naphthylamines avec le 1,2- et le 1,3-diols catalysée par le chlorure d'iridium avec un système BINAP	143
I.1.11. N-alkylation des amines utilisant les alcools et les amines comme électrophiles.....	143

I.1.12. Amination catalytique des alcools par l'ammoniaque.....	144
I.1.13. Synthèse de quinazolinones catalysée par l'iridium.....	144
I.1.14. Alkylation de méthylquinoléine par des alcools catalysée par l'iridium.....	145
I.1.15. Alkylation sélective (hétéro) aromatiques, des amines avec des alcools catalysée par un complexe de ruthénium	145
I.1.16. Synthèse sélective de N-arylpipéridines <i>via</i> le transfert d'hydrogène en tandem.....	146
I. 1. 17. Terpénylations des amines par transfert d'hydrogène.....	147
I.1.18. N-alkylation de diamines avec le glycérol catalysée par l'iridium.....	147
I. 2. Les julolidines.....	147
I.2.1. Les julolidines définitions et intérêts.....	148
I.2.2. Synthèse des julolidines.....	148
I.2.3. Synthèse des dérivés de la julolidine.....	151
I.3. Applications de julolidines.....	152
I.3.1. Influence des anneaux de tétrahydroquinoléine dans le dicyanométhylène-dihydrofuranne (DCDHF) une seule molécule fluorophores	152
I.3.2. Deuxième génération de rotors moléculaires fluorescents.....	153
I.3.3. Synthèse efficace d'un jasmonate marqueur fluorescent.....	154
I.3.4. Libération photo-induite de neurotransmetteurs par des julolidines coumarines.....	154
I.3.5. Influence de différents colorants organiques à base de julolidine dans les cellules solaires.....	155
I.3.6. Détection simultanée des anions F ⁻ et CN ⁻ par un simple chimiocepteur colorimétrique.....	155

CHAPITRE II : Synthèse de nouveaux dérivés julolidiniques

II. Introduction.....	157
II.1. Optimisation des conditions réactionnelles.....	157
II.1.1. Screening du catalyseur.....	157

II.1.2. Influence de la température.....	159
II.1.3. Influence du solvant.....	160
II.1.4. Influence des additifs.....	161
II.1.5 Influence du temps de la réaction.....	161
II.2. Application de la réaction dans la synthèse de nouvelles julolidines.....	162
II.3. Mécanisme réactionnelle de formation de la julolidine 3a et du N-propyl-tétrahydroquinoline 4a	163
II.4. β -alkylation des julolidines 3	164
II.5. C9-alkylation de la julolidine 3a	172

CHAPITRE III : Partie expérimentale

III.1. Généralités.....	175
III.2. Procédure générale pour la synthèse de la julolidine 3	175
III.2.1. La 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(julolidine) 3a	176
III.2.2. La 2-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/ (2-méthyljulolidine) 3b	176
III.2.3. La 3-méthyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/ (3-méthyljulolidine) 3c	177
III.2.4. La 1-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/ (1-méthyljulolidine) 3d	178
III.3. Procédure générale pour la synthèse de julolidines 5 et 6.....	178
III.3.1. La 2-bénzyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/ (2-bénzyljulolidine) 5a	179
III.3.2. La 2-(2-bromobénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine /2-(<i>o</i> -bromobénzyl)-julolidine 5b	180
III.3.3. La 2-(4-bromobénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/2-(<i>p</i> -bromobénzyl)-julolidine 5c	180
III.3.4. La 2-(4-méthylbénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine /2-(4'-méthylbénzyl)-julolidine 5d	181
III.3.5. La 2-(thiophèn-3-ylméthyl)- 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij]	

quinoléine 5e	182
III.3.6. La 2-((5-méthylthiophèn-2-yl) méthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine 5f	182
III.3.7. La 2-bénzyl-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij] quinoléine 5g	183
III.3.8. La 2-(2-bromobénzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine 5h	184
III.3.9. La 2-(4-bromobenzyl) -6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine 5i	185
III.3.10. La 2- (4-méthylbenzyl)-6- méthyl- 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine 5j	185
III.3.11. L'éthyl 2- (2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléin-9-yl) acétate 6a	186
III.3.12. La 9-(furan-2-ylméthyl)- 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine 6b	187
III.4. Préparation de complexes de ruthénium et d'iridium A-E.....	187
III.4.1. Catalyseur A.....	187
III.4.2. Catalyseur B.....	188
III.4.3. Catalyseur C.....	188
III.4.4. Catalyseur D.....	189
III.4.5. Catalyseur E.....	190
CONCUSION GÉNÉRALE	192
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	193
ANNEXE	198

Partie Phytochimie

Liste des tableaux

Tableau 1 : Saponines triterpéniques et sapogénines isolés du genre <i>Astragalus</i>	14
Tableau 2 : Flavonoïdes isolés du genre <i>Astragalus</i>	30
Tableau 3 : Quelques activités biologiques du genre <i>Astragalus</i>	40
Tableau 4 : Pouvoir pathogène des souches microbiennes utilisées.....	49
Tableau 5 : Masses et rendements des fractions obtenues.....	54
Tableau 6 : VLC sur gèle de silice (phase normale) de la fraction AcOEt des gousses de l'espèce <i>A. armatus</i>	57
Tableau 7 : Fractionnement de la fraction <i>n</i> -butanolique d' <i>A. armatus</i> sur VLC de polyamide.....	58
Tableau 8 : Fractionnement de la fraction B ₈ +B ₉ sur colonne de gel de silice normale.....	59
Tableau 9 : Fractionnement de la fraction B ₁₃ sur colonne de silice normale.	61
Tableau 10 : Fractionnement de la fraction B ₁₅ sur colonne de silice.....	61
Tableau 11 : Données de la série spectrale UV du composé P ₁	70
Tableau 12 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P ₂ dans CD ₃ OD.....	78
Tableau 13 : Données de la série spectrale UV du composé P ₃	79
Tableau 14 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (500 MHz) et RMN ¹³ C (125 MHz) du composé P ₃ dans CD ₃ OD.....	86
Tableau 15 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du composé P ₄ dans CD ₃ OD.....	93
Tableau 16 : Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) de composés P ₅ et P ₆ dans CD ₃ OD.....	94
Tableau 17 : Activité antioxydante d' <i>A. armatus</i> par les tests DPPH, ABTS, CUPRAC et métal chélate.....	97
Tableau 18 : Zones d'inhibition des trois fractions d' <i>A.armatus</i>	99
Tableau 19 : Concentration mimnimal inhibitrice (µg/mL) des fractions d' <i>A. armatus</i>	100
Tableau 20 : Effet de la FBAA sur l'activité phagocytaire et sur le taux de dégagement du carbone.....	101

Liste des figures

Figure 1 : Carte de répartition géographique des Fabacées d'après Heywood.....	3
Figure 2 : Quelques espèces de différentes sous-familles des Fabacées.....	5
Figure 3 : <i>Astragalus glycyphyllos</i>	7
Figure 4 : 2-phénylchromane.....	11
Figure 5 : Structure des saponines tritérpéniques et sapogénines isolés du genre <i>Astragalus</i>	22
Figure 6 : Structure des flavonoïdes isolés du genre <i>Astragalus</i>	35
Figure 7 : Photos d' <i>Astragalus armatus</i>	38
Figure 8 : Répartition géographique de l'espèce <i>Astragalus armatus</i> Willd.....	39
Figure 9 : Antioxydants naturels.....	44
Figure 10 : Antioxydants synthétiques.....	45
Figure 11 : Structure de l'acide 2,2'- Azinobis- (3-éthyl Benzo Thiazoline-6-Sulfonique): forme réduite (ABTS) et forme radical cation (ABTS ^{•+}).....	46
Figure 12 : Structure de 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl et 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazine.....	46
Figure 13 : Réaction du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	47
Figure 14 : La réaction de CUPRAC et chromophore: cation chélate bis (néocuproïne) cuivre (I).....	47
Figure 15 : Protocole d'extraction de l'espèce <i>Astragalus armatus</i> Willd.....	55
Figure 16 : Carte flavonique sur papier Whatman III de la fraction acétate d'éthyle et la fraction <i>n</i> -butanol de l'espèce <i>A.armatus</i>	56
Figure 17 : Schéma de fractionnement de la fraction AcOEt d' <i>A.armatus</i> Willd... ..	57
Figure 18 : Schéma de fractionnement de la fraction <i>n</i> - butanolique d' <i>A. armatus ssp. numidicus</i> (Coss. et Dur.) Maire.....	58
Figure 19 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale de la sous fraction S ₈	60
Figure 20 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale du produit P ₂	60
Figure 21 : Schéma de purification des produits isolés de la fraction <i>n</i> -butanolique d' <i>Astragalus armatus</i>	62
Figure 22 : La série spectrale UV du composé P ₁	71
Figure 23 : Structure partielle du composé P ₁	71
Figure 24 : Spectre de RMN ¹ H du composé P ₁ (CD ₃ OD, 400 MHz).....	72
Figure 25 : Structure du composé P ₁	72

Figure 26: Spectre de RMN ^1H du composé P₂ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	73
Figure 27: Spectre de RMN ^{13}C <i>J</i> -modulé du composé P₂ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	74
Figure 28: Spectre COSY du composé P₂	74
Figure 29 : Spectre HSQC <i>J</i> -modulé du composé P₂ (zone osidique).....	75
Figure 30: Spectre HSQC <i>J</i> -modulé du composé P₂ (partie de la génine).....	75
Figure 31: Spectre HMBC du composé P₂ (partie aglycone).....	76
Figure 32: Spectre HMBC du composé P₂ (zone osidique).....	77
Figure 33: Structure du composé P₂	78
Figure 34: La série spectrale UV du composé P₃	80
Figure 35: Structure partielle du composé P₃	81
Figure 36: Spectre de RMN ^1H du composé P₃ (CD ₃ OD, 500 MHz).....	82
Figure 37: Spectre COSY du composé P₃ (zone osidique).....	83
Figure 38: Spectre HSQC de la partie osidique du composé P₃	83
Figure 39: Spectre HMBC du composé P₃ (partie I : δ_{C} entre 100 et 170 ppm).....	84
Figure 40: Spectre HMBC du composé P₃ (partie II : δ_{C} entre 55 et 75 ppm).....	84
Figure 41: Spectre de RMN ^{13}C du composé P₃ (CD ₃ OD, 125 MHz).....	85
Figure 42: Structure du composé P₃	85
Figure 43: Spectre de RMN ^{13}C <i>J</i> -modulé des composés P₄ , P₅ et P₆ (CD ₃ OD, 150 MHz).....	89
Figure 44 : Spectre de HSQC des composés P₄ , P₅ et P₆	90
Figure 45 : Spectre de RMN ^1H des composés P₄ , P₅ et P₆ (CD ₃ OD, 600 MHz).....	90
Figure 46: Spectre de COSY des composés P₄ , P₅ et P₆	91
Figure 47: Spectre HMBC de composés P₄ , P₅ et P₆ (entre 59 et 84 ppm).....	91
Figure 48: Spectre de HMBC des composés P₄ , P₅ et P₆ (entre 67 et 78 ppm).....	92
Figure 49: Spectre HMBC de composés P₄ , P₅ et P₆ (entre 95 et 130 ppm).....	92
Figure 50: Spectre TOCSY de composés P₄ , P₅ et P₆	93
Figure 51 : Structure du composé P₄	93
Figure 52: Structure du composé P₅	95
Figure 53: Structure du composé P₆	95
Figure 54 : Zones d'inhibition de la fraction chloroformique vis-à-vis les souches de références.....	100
Figure 55 : Effet de la FBAA sur l'activité phagocytaire.....	101
Figure 56: Effet de la FBAA sur le taux de dégagement du carbone.....	102

Partie Synthèse catalytique

Liste des tableaux

Tableau 01: Effet du catalyseur sur la réaction de la tétrahydroquinoléine 1a avec le propane-1,3-diol 2a	158
Tableau 02: Influence de la température sur le rendement de la réaction.....	160
Tableau 03: Influence du solvant sur le rendement de la réaction.....	161
Tableau 04 : Effet des additifs sur le rendement de la réaction.....	161
Tableau 05: Influence du temps sur la réaction de la tétrahydroquinoléine 1a avec le propane-1,3-diol 2a	162

Liste des figures

Figure 1: Structure de la julolidine.....	148
Figure 2 : Structure de la jasmonate.....	154
Figure 3: Rayons X de nouveaux complexes C, D, E.....	159
Figure 4 : Spectre RMN ^1H du composé 5c (400 MHz, CDCl_3).....	167
Figure 5: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé 5c (100 MHz, CDCl_3).....	168
Figure 6: Spectre RMN ^1H du composé 5f (400 MHz, CDCl_3)	169
Figure 7: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé 5f (100 MHz, CDCl_3).....	170
Figure 8: Spectre RMN ^1H du composé 5g (400 MHz, CDCl_3).....	171
Figure 9: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé 5g (100 MHz, CDCl_3).....	171
Figure 10: Spectre RMN ^1H du composé 6a (300 MHz, CDCl_3).....	172
Figure 11 : Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé 6a (75 MHz, CDCl_3).....	173
Figure 12: Spectre RMN ^1H du composé 6b (300 MHz, CDCl_3).....	174
Figure 13: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé 6b (75 MHz, CDCl_3).....	174

Liste des schémas

Schéma 01 : Equation du transfert d'hydrogène.....	137
Schéma 02 : Autotransfert d'hydrogène dans l'alkylation d'une amine avec un alcool.....	137
Schéma 03 : N-Alkylation de l'aniline avec les alcools primaires utilisant la silicone et l'oxyde d'aluminium.....	138
Schéma 04 : C-alkylation de arylacétonitriles par des alcools.....	139
Schéma 05 : N-alkylation et N-hétérocyclisation de l'aniline en utilisant des alcools et des aldéhydes catalysée par le ruthénium	139
Schéma 06 : N-alkylation et N-benzoylation des aminoarènes avec des alcools catalysés par le ruthénium.....	139
Schéma 07 : Réaction de transfert d'hydrogène catalysée par le complexe [IrCp*] dirigé vers la synthèse organique inoffensifs pour l'environnement.....	140
Schéma 08 : Activation des alcools	141
Schéma 09 : N-alkylation du 2- (pipérazin-1-yl) pyrimidine avec un groupe benzo [d] [1,3] dioxole-5-ylméthanol utilisant le [RuCl ₂ (<i>p</i> -cymène)] ₂	141
Schéma 10 : Synthèse sélective des amines secondaires et tertiaires.....	142
Schéma 11 : N-alkylation catalytique de pipéridine et de pyrrolidine avec différents alcools.....	143
Schéma 12 : N-hétérocyclisation de naphthylamines avec le 1,2- et le 1,3-diols catalysée par le chlorure d'iridium avec un système BINAP.....	143
Schéma 13 : N-alkylation des amines utilisant les alcools et les amines comme électrophiles.....	144
Schéma 14 : Amination catalytique des alcools par l'ammoniaque.....	144
Schéma 15 : Synthèses des quinazolinones catalysé par l'iridium.....	144
Schéma 16 : Alkylation de méthylquinoléine par des alcools catalysée par l'iridium.....	145
Schéma 17 : Alkylation sélective (hétéro) aromatiques, des amines avec des alcools catalysée par un complexe de ruthénium de pince.....	145
Schéma 18 : Synthèse sélective de N-arylpipéridines <i>via</i> le transfert d'hydrogène en tandem.....	146
Schéma 19 : Synthèse de N-arylpipéridine fonctionnalisée.....	146

Schéma 20 : Terpénylations des amines par transfert d'hydrogène.....	147
Schéma 21 : N-alkylation de diamines avec le glycérol catalysé par l'iridium.....	147
Schéma 22 : Synthèse de la julolidine par réaction de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec triméthylène chlorobromure.....	149
Schéma 23 : Synthèse de la 9,10-diméthyl-9H-julolidine.....	149
Schéma 24 : Synthèse de la 1-oxojulolidine.....	149
Schéma 25 : Synthèse de julolidines substituées par réaction de l'aniline avec le triméthylène chlorobromure.....	150
Schéma 26 : Synthèse de julolidines substituées par réaction de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine et le 4-chloropropanol.....	150
Schéma 27 : Synthèse de la julolidine par réaction de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec le 1-chloro-2,3-époxypropane.....	150
Schéma 28 : Synthèse de la 1-aryl-julolidine.....	151
Schéma 29 : Synthèse de julolidines 1,7- disubstituées.....	151
Schéma 30 : Synthèse de coumarines 4-substituées.....	152
Schéma 31 : Synthèse d'un fluorophore à base de la julolidine par la réaction de Vilsmeier	152
Schéma 32 : Synthèse de nouveaux rotors à base de la julolidine.....	153
Schéma 33 : Synthèse des julolidines coumarines et acides aminés conjugués.....	154
Schéma 34 : Synthèse de deux nouveaux colorants organiques à base de la julolidine.....	155
Schéma 35 : Nouvelle méthode pour détecter simultanément les anions F ⁻ et CN ⁻	156
Schéma 36 : Différents catalyseurs utilisés dans la réaction de la tétrahydroquinoléine avec le propane-1,3-diol.....	157
Schéma 37 : Screening du catalyseur.....	158
Schéma 38 : Influence de la température.....	160
Schéma 39 : Influence du solvant.....	161
Schéma 40 : Rendements des composés isolés de la β -alkylation des julolidines 3	162
Schéma 41 : Intermédiaires proposées pour la formation de 3a et 4a	164
Schéma 42 : Réaction du 2,2-diméthylpropan-1,3-diol avec la tétrahydroquinoléine.....	165
Schéma 43 : Voies d'alkylation compétitifs.....	165
Schéma 44 : Composés isolés de la β -alkylation de julolidines 3	166
Schéma 45 : C ⁹ -alkylation de la julolidine 3a	170

Liste des abréviations

Solvants et réactifs :

BHA	butylhydroxyanisole
CDCl ₃	chloroforme deutéré
CD ₃ OD	méthanol deutéré
COD	1,5 cyclooctadiène
Cp*	1,2,3,4,5 pentaéthylcyclopentadiène
DCM	dichlorométhane
DPPBA	acide 2-(diphénylphosphino)benzoïque
DPPBSA	acide diphényl phosphane benzène sulfonique
EDTA	acide éthylènediaminetétraacétique
Ir	iridium
M-H	Mueller-Hinton
Ru	ruthenium
VS	vaniline sulfurique

Techniques chromatographiques :

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CC	Chromatographie sur Colonne de silice
Con	Conversion
GC	Chromatographie Gazeuse
GC-MS	Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
m/z	masse/charge d'un ion
Rdt	rendement
VLC	chromatographie liquide sous vide

Détermination structurale :

COSY	correlated spectroscopy
d	doublet
DEPT	distortionless enhanced polarization transfer
dd	doublet de doublet
dl	doublet large
dq	doublet de quadruplet
dt	doublet de triplet

Gal	β -D-galactopyranose
Glu	β -D-glucopyranose
HMBC	heteronuclear multiple bonding connectivity
HSQC	heteronuclear single quantum connectivity
Hz	Hertz
J	constante de couplage
m	multiplet
MHz	méga Hertz
ppm	parties par million
q	quadruplet
qt	quintuplet
Rha	α -L-rhamnopyranose
RMN ^1H	résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ^{13}C	résonance magnétique nucléaire du carbone
s	singulet
sex	sextuplet
sl	singulet large
SMHR	spectrométrie de masse à haute résolution
t	triplet
td	triplet de doublet
TOCSY	total correlation spectroscopy
UV	ultra violet
δ_{C}	déplacement chimique du carbone en ppm
δ_{H}	déplacement chimique du proton en ppm
λ	longueur d'onde

Activités biologiques :

ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ATCC	american type culture collection
CMI	concentration minimale inhibitrice
CUPRAC	cupric reducing antioxidant capacity
DO	densité optique
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
ERO	espèces réactives oxygénées
FAAA	fraction acétate d'éthyle de l'espèce <i>Astragalus armatus</i>
FBAA	fraction butanolique de l'espèce <i>Astragalus armatus</i>
FCAA	fraction chloroformique de l'espèce <i>Astragalus armatus</i>
CI ₅₀	concentration inhibitrice à 50%
NCCLS	national committee for clinical laboratory standard

PARTIE 1 :

ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET

BIOLOGIQUE DE L'ESPÈCE

Astragalus armatus ssp.

numidicus (Coss. et Dur.) M.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis la nuit des temps, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. A cet effet, les plantes font partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines.

A travers les siècles, le savoir concernant les plantes s'est accumulé, documenté et a été transmis de génération en génération. Ainsi, jusqu'au début du 20^{ème} siècle, la quasi totalité des médicaments étaient à base de plantes.

Le règne végétal représente une source importante de molécules actives, les études sur les plantes ont toujours porté beaucoup d'espoir pour la recherche des médicaments à base de plante ou des principes actifs.

Le continent africain est un des continents fourni d'une biodiversité la plus riche dans le monde. L'Algérie possède une des flores les plus diversifiées et les plus originales du bassin méditerranéen. Cette flore compte près de 3 000 espèces réparties dans près de 150 familles parmi lesquelles près de 653 espèces sont endémiques [1]. Ce potentiel de plantes médicinales constitue des milliers d'espèces présentant divers intérêts, est très peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique.

Dans le cadre de la valorisation de la flore du Nord et du Sahara algérien, par la recherche de nouveaux composés d'origine végétale à intérêt thérapeutique, notre laboratoire a entamé un programme de recherche destiné à l'étude chimique et biologique de cette flore. L'endémisme et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle demeurent nos critères principaux de sélection de plantes en vue d'une investigation phytochimique et biologique.

A cet effet, dans la première partie des travaux de thèse, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation du potentiel biologique de l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* Coss. et Dur. Maire., ces travaux sont divisés en trois sous-parties :

- La première sous-partie est consacrée à une revue bibliographique où le premier chapitre présente un aperçu bibliographique sur le genre *Astragalus* et le deuxième chapitre décrit d'une façon succincte l'activité biologique de ce genre.
- La deuxième sous-partie décrit le matériel et les méthodes où le premier chapitre traite l'extraction de la plante suivie de purifications et le deuxième chapitre est

destiné à l'évaluation des activités antioxydante, antibactérienne et immunomodulatrice.

- La troisième sous-partie est consacrée aux résultats et discussion dont le premier chapitre concerne la détermination structurale des produits isolés et le deuxième chapitre est destiné à la discussion des résultats sur l'activité antioxydante, antibactérienne et immunomodulatrice.

Cette partie se termine par une conclusion générale.

SOUS-PARTIE 1:
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I:

*Aperçu bibliographique sur le
genre Astragalus*

I.1. Les Fabacées

I.1.1. Généralités

Les Fabacées composent une des plus vaste famille des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19 400 espèces, distribués en milieu aussi bien tempéré que tropical [2], cette famille comprend les plantes herbacées, les arbres et les arbustes. Elles ont les feuilles simples ou composées, fréquemment trifoliolées, ordinairement avec des stipules, beaucoup sont grimpantes et possèdent des feuilles ou des parties de feuilles transformées en vrilles. Les fleurs sont du type 5 avec 2 verticilles d'étamines ou parfois rassemblent souvent à des papillons mais un seul carpelle donne une gousse bivalve et contenant de nombreuses graines [3].

La famille des Fabacées est la famille des plantes dicotylédones. Depuis longtemps, elles portaient le nom Papilionacées à cause de la forme spéciale des fleurs où l'on reconnu par un pétale supérieure ou étendard, deux pétales inférieurs unis ou carène et deux pétales latéraux ou ailes. De nombreuses Légumineuses constituent une source importante de protéines et huiles végétales [4].

I.1.2. Répartition géographique des Fabacées

Les Fabacées se distribuent dans le monde entier et se trouvent dans les zones tropicales, subtropicales ou modérées (**Figure 1**). Cette famille inclut autant de plantes herbacées, aquatiques ou xérophytes, que des arbustes, des arbres ou des plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles.



Figure 1: Carte de répartition géographique des Fabacées d'après Heywood [5]

I.1.3. Classification

Selon les classifications on distingue :

- Classification classique (1981)

Les Fabacées (au sens limité) sont nommées *Fabaceae* ou *Papilionaceae*. Cette famille comprend 12000 espèces réparties en plus de 400 genres.

- Classification phylogénétique d'APG III (2009) (Angiosperm Phylogeny Group).

Les Fabacées (au sens large) sont nommées *Fabaceae* ou *Leguminosae*. Cette famille comprend 19 400 espèces réparties dans trois sous-familles :

-Les Mimosoidées

Ont de tige ligneuse, rarement herbacée; feuilles bi-tripinnées ou simples fleurs presque toujours petites, régulières, hermaphrodites ou polygames, étamines saillantes en dehors des petits pétales. Comprenant 62 genres et environ 2500 espèces, sont en majorité des arbres et arbuste des zones tropicales et subtropicales [6].

-Les Caesalpinioïdées

Sont des arbres ou des arbustes à feuilles généralement composées, à fleurs plus ou moins irrégulières, parfois presque papilionacées, à étamines unies. Comprenant environ 150 genres et 2200 espèces, sont principalement distribués en zones tropicales et subtropicales [6].

- Les Papilionacées ou Faboïdées

Représentant la sous-famille la plus variée avec 429 genres et plus de 12000 espèces, comprenant des herbes et de petits arbustes Elles ont une distribution quasi cosmopolite et se trouvent dans les zones tempérées et tropicales. Cette sous famille inclut les légumineuses à grain tel que les haricots, les pois et les lentilles [7]. Les fleurs sont sous forme de papillon avec 5 pétales (l'étandard, 2 ailes et carène composé de 2 pétales), calice à 5 sépales soudés, les fruits sont des gousses bivalves. Les fleurs sont zygomorphes (à symétrie radiale), les 10 étamines sont incluses dans les pétales, unies par leurs filets en un tube qui entoure le pistil [8]. Cette famille peut se diviser en 2 groupes, les viciées qui comportent les papilionacées à vrille avec lesquelles elles grimpent et les lotées ou papilionacées sans vrilles.



Mimosa pudica [9]
(Mimosoidées)

Caesalpinia bonduc [10]
(Caesalpinioïdées)

Onobrychis vicifolia [11]
(Papilionacées)

Figure 2 : Quelques espèces de différentes sous-familles des Fabacées.

I.1.4. Importance des Fabacées

Certaines spontanées ou cultivées les Fabacées, au point de vue de leurs propriétés, ont un haut intérêt économique et médical. Elles fournissent de nombreuses substances alimentaires, des substances médicales, des bois magnifiques pour la construction, des substances tinctoriales, des gommés et des résines, etc.

Sur le plan agricole dans le monde entier. Les Fabacées herbacées cultivées dans les régions tempérées peuvent jouer un rôle important comme engrais vert ou l'assurance du sol pour réduire l'érosion [12]. Depuis longtemps, les paysans ont appris que lorsqu'une terre a été épuisée par la culture répétée d'une plante tel que le blé, on peut la rendre fertilisante en l'ensemencant d'une légumineuse fourragère telle que la luzerne, le trèfle, le lupin.

Sur le plan alimentaire, un grand nombre de Fabacées à graines ou même les fruits comestibles : haricot, pois, fève; contient beaucoup d'amidon et une proportion de matière azotée supérieure à celle des viandes de boucherie.

Sur le plan industriel, les Fabacées exotiques nous fournissent des bois très recherchés en ébénisterie; l'Indigotier (*Indigofera tinctoria*) produit l'indigo, matière colorante bleue; le bois de Campêche (*Hematoxylon campechianum*), cultivé en Inde, fournit une matière colorante rouge.

Sur le plan médical des laxatifs dans différentes espèces de *Cassia*, qui constituent le séné du commerce; des purgatifs doux dans les fruits du caroubier et du tamarin, qui sont comestibles et d'un goût très agréable; des astringents dans le cachou et plusieurs acacias et le bois de Campêche, ainsi spartéine extraite du genêt à balais et réglisse [2].

Sur le plan pharmaceutique les Fabacées sont très intéressants vu le nombre élevé d'espèces figurant dans les pharmacopées et donnent plusieurs produits utilisables en thérapeutique [13-16].

I.2. Le genre *Astragalus*

I.2.1. Introduction

Parmi les 730 genres de la famille des Fabacées, on trouve en Algérie environ 53 genres et 337 espèces [1]. De notre part, nous nous sommes intéressés dans ce travail au genre *Astragalus* L. qui est le plus grand genre à fleurs avec environ 3000 espèces dont 10 espèces sont endémiques au Maroc, Tunisie et 'Algérie [1,17]. D'après la bibliographie, ce genre montre une richesse en saponines notamment de squelettes cycloartane et olénane, il est mentionné aussi les composés phénoliques et les polysaccharides [18].

I.2.2. Historique

Le mot astragale est d'origine grecque; il signifie l'un des os de l'articulation tibiotarsienne. Cette dénomination vient de la ressemblance du bruit des grains séchés de la plante avec celui de l'os, quand ils tombent sur une surface solide [19].

I.2.3. Description botanique

Le genre *Astragalus*, a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753, est classé dans la sous famille des papilionacées, appartient à l'embranchement des spermaphytes; sous embranchement des angiospermes, classe des dicotylédones, sous classe des dialypétales; tribu des galégas. C'est l'un des plus importants genres de la famille des fabacées.

Selon Quezel le genre *Astragalus* est défini : Calice tubuleux en cloche, à dents subégales ou très inégales. Pétales généralement longuement onguicules, étendards dressés, carèmes égalant environ les ailes, étamines didelphes à gaine fendue au sommet ovaire pluri ovule sur 2 rangs gousse de forme variée rarement uniloculaire généralement à 2 loges plus ou moins complètes par introflexion de l'une des structures déhiscente ou indéhiscente. Feuilles imparipennées en générale stipulées [1]. **(Figure 3)**



Figure 3: *Astragalus glycyphyllos* [20]

1.2.4. Répartition géographique du genre *Astragalus*

Le genre *Astragalus* L. est le plus abondant de la famille des Fabacées avec environ 2500 espèces et avec plus de 250 sections taxonomiques dans le monde [21-22]. Ce genre est largement distribué partout dans les régions tempérées et arides du monde et principalement localisé en Asie (1500 espèces), l'Amérique du Nord (500 espèces) et l'Amérique du Sud (150 espèces) et l'Europe (120 espèces) [23], dans les pays du bassin Méditerranéen 500 espèces ont été décrites dont une cinquantaine en Afrique du Nord [24, 25]. Cependant, le centre d'origine et la biodiversité du genre *Astragalus* est l'Eurasie, particulièrement les parties montagneuses de l'Asie du Sud-Ouest et du Sud-Centrale [26, 27]. Les espèces d'*Astragalus* grandissant en Afrique du Nord sont des plantes sahariennes méditerranéennes ou arabes. Ils sont représentés par plus de 50 espèce délimitée dans plusieurs sections et dont 15 sont trouvées au Sahara de l'Algérie. Dans la flore de l'Afrique du Nord, 10 espèces d'*Astragalus* sont endémique en Algérie, le Maroc et la Tunisie [1, 17].

En Algérie, le genre *Astragalus* est distribué dans la zone de pré-saharienne et associée à la désertification dans les zones arides en raison du surpâturage [28].

1.2.5. Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces du genre *Astragalus* sont utilisées dans la médecine traditionnelle dans le monde entier comme des herbes médicinales contre l'ulcère de l'estomac, la toux, la bronchite chronique, l'hypertension, les troubles gynécologiques, le diabète et les piqûres venimeuses de scorpion [29].

En R.D.C (ex Zaër), les racines fraîches d'*Astragalus lusitanicus* Lam. sont utilisées en cataplasme dans les maladies du genou et du coude (enflures, arthroses et luxations) [29].

En Algérie, l'espèce *Astragalus gyzensis* Bunge est utilisée pour soulager les morsures des serpents [30].

Au Maroc, la décoction des feuilles et des racines d'*Astragalus tenuifolius* Desf. est utilisée contre la fatigue et la helminthiase [31].

Astragalus membraneuses est une plante traditionnelle chinoise bien connue pour le traitement des maladies neurodégénératives, elle compte parmi les herbes toniques les plus populaires. Les Chinois utilisent les racines de cette espèce comme un fortifiant [32].

I.2.6. Toxicité du genre *Astragalus*

Le genre *Astragalus* regroupe les espèces toxiques ainsi que les non toxiques.

I.2.6.1. Astragales non toxiques

La plupart des astragales ne sont pas toxiques. Certaines sont utilisées comme des espèces de pâturage, comme *Astragalus nuttalianus* et *Astragalus cicer* rencontrées respectivement dans le Sud-Ouest et à l'Ouest des Etats Unis sont très appréciées par le bétail [33]. De même pour les espèces *Astragalus gyzensis* Bunge. et *Astragalus gombo* Bunge. localisés dans le nord du Sahara Algérien [30].

I.2.6.2. Astragales toxiques

Les espèces toxiques de ce genre sont classées selon la nature de la toxine dominant et le type d'intoxication qu'elles provoquent, et se divisent en trois catégories [32] :

- Les astragales accumulatrices de Sélénium [34].
- Les astragales synthétisant des produits nitrés [35].
- Les astragales contenant des alcaloïdes indolizidiques [36].

I.2.7. Caractères chimiques du genre *Astragalus*

D'après l'étude bibliographique que nous avons menée, les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Astragalus* ont permis essentiellement l'isolement de saponines notamment de squelette cycloartane et oléane, des composés phénoliques surtout les flavonoïdes et les isoflavonoïdes. Les polysaccharides sont aussi abondants dans ce genre, tandis que les composants toxiques consistent en nitro-toxines, des alcaloïdes indolizidiques et des dérivées de sélénium [18].

I.2.7.1. Saponines

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes [37]. Ils sont principalement produits par les plantes mais aussi par les organismes marins [38, 39]. Structuralement, ils sont classés en deux groupes (selon la nature de la génine): les saponines à génines triterpéniques, sont plus nombreux existent chez les angiospermes dicotylédones et chez certains animaux marins et les saponines à génines stéroïdiques, exclusivement présentes chez les angiospermes monocotylédones [37]. Quand la génine est substituée par une seule chaîne osidique, les saponosides sont appelés monodesmosidiques et quand la génine est substituée par deux chaînes osidiques, on parle de saponines bidesmosidiques [40].

***Génines triterpéniques**

Les triterpènes, 4000 composés construits sur plus de 40 squelettes différents sont des composés en C₃₀ issus de la cyclisation du 3S-2,3-époxy-2,3-dihydrosqualène ou, plus rarement du squalène lui-même. Toujours hydroxylés en position 3, les différences majeures sont liées à la configuration et à la conformation adoptée par l'époxy-squalène (ou le squalène) avant la cyclisation. Le cation issu de cette cyclisation peut ensuite subir une série de déplacements 1, 2 de protons et de méthyles expliquant l'existence des différents squelettes tétra- et pentacycliques qui caractérisent ce groupe [37].

***Génines stéroïdiques**

La structure chimique des génines stéroïdiques est similaire à celle de nombreuses hormones humaines, et de plusieurs plantes qui contiennent un effet sur l'activité hormonale. L'igname sauvage (*Dioscorea villosa*) contient des saponines

stéroïdiques à partir desquelles, on synthétise la pilule contraceptive [32]. Les saponines stéroïdiques sont présentes chez les dioscoraées et les dicotylédones. Ils possèdent un squelette à 27 atomes de carbone [40].

Les propriétés biologiques des saponosides sont largement étudiées, où on leur reconnaît plusieurs activités parmi ces activités on distingue les suivantes:

Des travaux sur les saponines, révèlent que cette classe de molécules possède des propriétés biologiques et pharmacologiques diverses. On peut citer : des activités molluscicides, anti-inflammatoires, antifongiques, antimicrobiennes, antiparasitaires, cytotoxiques, antitumorales, immunostimulantes et immunomodulatrices [41-44], neuroprotecteurs, antituberculeux [45], inhibiteurs de l'aggrégation plaquettaire [46], activité hémolytique [47-49]. Depuis quelques années, des recherches sur des saponines mentionnent également des activités anti-apoptotiques sur différents types de cellules telles que : Jurkat (lymphocyte T humains leucémiques), teratocarcinome F9, hépatocytes humains, SK-HEP-1, macrophages des tissus périphériques [50-52].

I.2.7. 2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une grande famille de composés phénoliques ayant une structure commune. Ce sont des métabolites secondaires des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photosynthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, sont convertis en flavonoïdes [53]. Les flavonoïdes sont presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles. Les flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols), les anthocyanosides rouges, bleus ou violets. Lorsqu'ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigment : le cas des flavones et des flavonols incolores et les anthocyanosides [54]. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes. Ils ont un goût désagréable [55]. Ils ont été découverts par Albert Szent-Györgyi, Hongrois, en 1936 [56].

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques d'une origine biosynthétique commune. Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C_{15} , caractérisée par un enchaînement $Ar-C_3-Ar$ (figure 4).

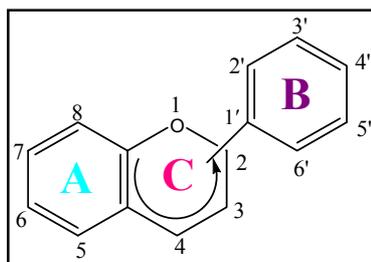


Figure 4: 2-phénylchromane

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans différents domaines (la médecine, la biologie, la pharmacie et la chimie), où on leur reconnaît plusieurs activités et effets parmi les quels on distingue :

Effets Antiallergique [57, 58], anti-inflammatoire [59], anti-ulcèreux [60], anti-cancéreux [61], activités antibactérienne [62], antifongique [63], antivirale [64,65], antioxydante [66-70], estrogénique et anti-estrogénique [71], activité sur les maladies neuro-dégénératives [72], insecticides [73] et anti hépatotoxique [74].

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète, Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques [75, 76]. Certains flavonoïdes peuvent réduire le risque des maladies cardiovasculaires [77,78].

I.2.8.Travaux antérieurs sur le genre *Astragalus*

Les saponines triterpènes et sapogénines sont les métabolites secondaires les plus largement rencontrées dans le genre *Astragalus*. On peut le répartir en **4 groupes**.

I.2.8.1. Cycloartane triterpénoïdes: les triterpènes du type cycloartane ont été découverts pour la première fois dans le genre *Astragalus* et ils sont les plus dominants parmi les triterpènes connus de ce genre. Ils dérivent dans la majorité du squelette cycloarténol par oxydation de carbones en C(6), C(16), C(20), C(23), ou C(24), suivi d'une cyclisation pour former :

- l'éther cyclique en (20,24) comme dans le cas du cycloastragénol ou cyclogaléginol.
- l'éther cyclique en (20,25)
- l'éther cyclique en (16,24; 20,24) appelé cycloalpigénine.
- l'éther cyclique en (16,23; 16,24) appelé cycloorbigénine B.

Ces terpènes peuvent être répartis en 6 sous-groupes.

I.2.8.1.a. Cycloastragénol : le nom cycloastragénol représentant le squelette le plus simple de cette catégorie qui comprend 77 composés (1-77). Il est également nommé cyclosieversigénine et astramembrangénine. Ils possèdent tous la structure commune (20*R*, 24*S*)-époxy-cycloartane-3 β , 6 α , 16 β , 25-tetrol. Parmi les 4 groupements OH, ceux en position C(3) et C(6) sont souvent liés à des unités osidiques (**tableau 1**). Dans les composés de (70-77) les groupements OH déjà mentionnés dans cette catégorie sont soit oxydés ou bien réduits sinon d'autres carbones sont aussi hydroxylés.

I.2.8.1.b. Cyclogalégénines : les composés apparentés au cyclogalégénine de 78-85 sont des isomères de ceux de la série cycloastragénol car ils possèdent la structure principale (20*S*, 24*R*)-époxy-cycloartane-3 β , 6 α , 16 α , 25-tetrol. Les différences de structure résident dans les positions de branchement des sucres.

I.2.8.1.c. Cyclocanthogénines : les composés de 86 à 118 ont le même squelette de base du cyclocanthogénine, et ceux de 119 à 128 sont apparentes au cycloasgénine, qui est l'épimère en C(24) du cyclocanthogénine. Tous ces composés sont caractérisés par une chaîne ouverte due à l'ouverture de l'époxyde (20*S*, 24*R*) des séries précédentes. Les autres composés de cette catégorie de 129 à 159 sont obtenus par oxydation, réduction ou hydroxylation supplémentaire de la chaîne carbonée du cyclocanthogénine ou son épimère.

I.2.8.1.d. Cyclocephalogénines : cette série comporte les composés de 160 à 171 dérivant du cyclocephalogénine caractérisé par un éther cyclique à 6 chaînons (oxirane).

I.2.8.1.e. Eremophiloside : tous les composés de cette série 172-189 possèdent un cycle éther fusionné en *cis* par rapport au cycle adjacent, due à la cyclisation de la chaîne latérale oxydée caractérisant le sous-groupe **c** par époxydations entre C(16) et C(23). Parmi les composés de cette série certains présentent 2 à 3 époxydations de la chaîne latérale 184-189. Tandis que d'autres se sont dégradés en perdant le fragment méthylepropanoyle 172-177.

I.2.8.1.f. Sécocycloartane saponine et sapogénine : ces composés de 190-194 sont caractérisés par le clivage du cyclopropane par rupture de la liaison carbone-carbone C(9)-C(10).

I.2.8.2. Lanostanes : seulement 5 composés dérivant du squelette lanostane ont été rapportés 195-198. En effet l'obergénine et son dérivé le 3-*O*-xylopyranoside orbicoside

ont été isolés pour la première fois en 2003 de l'espèce *A. orbiculatus*, suivi 6 ans après par les 3 autres lanostanes isolés à partir d'*A. lecocephalus*.

I.2.8.3. Saponines oléananes ou oléananes : nous avons recensé 38 composés **199-237** dont seulement un oléanane et parmi les saponosides 14 sont du type bidesmodique.

I.2.8.4. Autres triterpènes : Il a été reporté dans le genre *Astragalus* un seul triterpène du type ursane, il s'agit de l'acide ursolique et des sapogénines du type lupane, il s'agit de la népéhinone et l'acide bétulinique et enfin 3 sapogénines du type oléanane modifié **241-243** ont été isolées d'*A. corniculatus*.

Tableau 1 : Saponines tritérpéniques et sapogénines isolés du genre *Astragalus*

N°	Nom du composé	Espèces	Réf
1	Cycloastragénol (cyclosieversigénine)	<i>A.inopinatus</i>	[79]
		<i>A.exilis</i>	[80]
		<i>A.spinusus</i>	[81]
		<i>A.bicuspis</i>	[82]
		<i>A.leucocephalus</i>	[83]
		<i>A.caspicus</i>	[84]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
2	Cyclolehmanside C	<i>A. lehmannianus</i>	[86]
3	Cycloascualoside D	<i>A. galegiformis</i>	[87]
		<i>A. caucasicus</i>	[87]
4	Trojanoside A	<i>A.trojanus</i>	[88]
5	Trojanoside B	<i>A.trojanus</i>	[88]
		<i>A.flavescens</i>	[89]
6	Trojanoside I	<i>A.trojanus</i>	[90]
7	Trojanoside J	<i>A.trojanus</i>	[90]
8	Trojanoside K	<i>A.trojanus</i>	[90]
9	Astrasieversianine I	<i>A.trojanus</i>	[90]
		<i>A.gilvus</i>	[91]
10	Astrasieversianine II	<i>A.trojanus</i>	[90]
		<i>A.gilvus</i>	[91]
11	Astrasieversianine VI	<i>A.exilis</i>	[80]
		<i>A.gilvus</i>	[91]
		<i>A.spinusus</i>	[81]
12	Astrasieversianine X	<i>A.kahiricus</i>	[92]
		<i>A.gilvus</i>	[91]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
13	Astrasieversianine XV (astraversianine XV)	<i>A.trojanus</i>	[90]
14	Astragaloside I (astrasieversianine IV, cyclosieversioside B)	<i>A.trojanus</i>	[90]
		<i>A.exilis</i>	[80]
		<i>A.baibutensis</i>	[93]
		<i>A.maowensis</i>	[94]
		<i>A.icmadophilus</i>	[95]
		<i>A.ptilodesvar.cariensis</i>	[96]
15	Astragaloside II (astrasieversianine VIII)	<i>A.oleifolius</i>	[97]
		<i>A.gilvus</i>	[91]
		<i>A.baibutensis</i>	[93]
		<i>A.maowensis</i>	[94]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
16	Astragaloside III	<i>A.illyricus</i>	[98]
17	Astragaloside IV	<i>A.gilvus</i>	[91]
		<i>A.baibutensis</i>	[93]
		<i>A.flexus</i>	[99]
		<i>A.caspicus</i>	[84]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
		<i>A.ptilodesvar.cariensis</i>	[96]
18	Astragaloside VII	<i>A.flavescens</i>	[89]
		<i>A.dissectus</i>	[100]

19	Astraverrucine I (cycloaraloside A)	<i>A. amarus</i>	[101]
		<i>A.peregrinus</i>	[102]
		<i>A.flexus</i>	[99]
		<i>A.illyricus</i>	[98]
20	Astraverrucine II	<i>A. verrucosus</i>	[103]
21	Astraverrucine III	<i>A. verrucosus</i>	[103]
22	Astraverrucine IV (peregrinoside I)	<i>A. verrucosus</i>	[104]
		<i>A.peregrinus</i>	[102]
		<i>A.hamosus</i>	[92]
23	Astraverrucine V	<i>A. verrucosus</i>	[104]
24	Astraverrucine VI	<i>A. verrucosus</i>	[104]
25	Cyclounifolioside B	<i>A.unifoliolatus</i>	[105]
		<i>A.flexus</i>	[99]
		<i>A.illyricus</i>	[98]
26	Cycloaraloside B	<i>A. amarus</i>	[106]
		<i>A.unifoliolatus</i>	[105]
		<i>A.verrucosus</i>	[107]
27	Cycloaraloside C (astrailienine A)	<i>A. unifoliolatus</i>	[105]
		<i>A. verrucosus</i>	[107]
28	Cycloaraloside D (peregrinoside II)	<i>A.amarus</i>	[108]
		<i>A.peregrinus</i>	[102]
		<i>A.verrucosus</i>	[107]
29	Cycloaraloside E	<i>A.amarus</i>	[108]
30	Cycloaraloside F	<i>A.amarus</i>	[109]
		<i>A.villosissimus</i>	[109]
31	Cycloexoside	<i>A.exilis</i>	[110]
32	Cycloexoside B	<i>A.exilis</i>	[80]
33	Cyclocarpaside	<i>A.coluteocarpus</i>	[111]
34	Cyclocarpaside A	<i>A.coluteocarpus</i>	[112]
35	Cyclocarpaside B	<i>A.coluteocarpus</i>	[113]
36	Cyclocarpaside C	<i>A.coluteocarpus</i>	[112]
37	Cyclocephalosite II	<i>A.microcephalus</i>	[114]
38	Asernestioside A	<i>A.ernestii</i>	[115]
39	Asernestioside B	<i>A.ernestii</i>	[115]
40	Asernestioside C	<i>A.ernestii</i>	[115]
41	Agroastragaloside IV	<i>A.membranaceus</i>	[116]
42	Astrasieversianine IX	<i>A. sieversianus</i>	[117]
43	Astramembrannine II	<i>A.exilis</i>	[80]
		<i>A.bicuspis</i>	[82]
		<i>A.membranaceus</i> <i>var.mongholicus</i>	[118]
44	Cyclosiversioside D	<i>A.exilis</i>	[80]
45	Cyclosiversioside E	<i>A.flexus</i>	[99]
		<i>A.chiwensis or chinensis</i>	[119]
		<i>A.ptilodesvar.cariensis</i>	[96]
46	Cyclosiversioside G	<i>A.exilis</i>	[80]
47	Kahiricoside I	<i>A.kahiricus</i>	[92]
48	Astraverrucine VII	<i>A.verrucosus</i>	[108]
49	Baibutoside	<i>A.baibutensis</i>	[93]

50	Acetylastragaloside I	<i>A.maowensis</i>	[94]
		<i>A.mongholicus</i>	[118]
51	Isoastragaloside I	<i>A.mongholicus</i>	[118]
52	Isoastragaloside II (astrasieversianine VII)	<i>A.membranaceus</i>	[118]
53	Isoastragaloside IV	<i>A.ernestii</i>	[120]
54	Trigonoside I	<i>A.trigonus</i>	[121]
55	Trigonoside II	<i>A.spinusus</i>	[81]
		<i>A.armatus</i>	[122]
56	Trigonoside III	<i>A.spinusus</i>	[81]
57	Elongatoside	<i>A.campylosema</i>	[123]
58	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20R, 24S)-3- {[2-O-(α -L-arabino-pyranosyl) β -D-xylopyranosyl]oxy}-6,16-dihydroxy-20,24-epoxy-9,19-cyclolanostan -25-yl- β -D-glucopyranoside	<i>A.campylosema</i>	[123]
		<i>A.sempervirens</i>	[96]
59	Astramembranoside A	<i>A.membranaceus</i>	[124]
60	Brachyoside B	<i>A. spinusus</i>	[125]
		<i>A.membranaceus</i>	[124]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
61	Trojanoside H	<i>A.trojanus</i>	[126]
		<i>A.sempervirens</i>	[127]
		<i>A.armatus</i>	[122]
62	Caspicuside II	<i>A.caspicus</i>	[84]
63	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20R, 24S)-3- {[3-O-Acetyl-2-O-(α -L-arabino-pyranosyl)- α -L-arabinopyranosyl]oxy}-16,25-dihydroxy-20,24-epoxy-9,19-cyclolanostan-6-yl- β -D-glucopyranoside	<i>A.icmadophilus</i>	[95]
64	Astrachryoside A	<i>A. chrysopterus</i>	[128]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
65	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20R, 24S)-3- {[2-O-(6-Deoxy- α -L-mannopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy}-6,16-dihydroxy-20,24-epoxy-9,19- cyclolanostan-25-yl- β -D-glucopyranoside	<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
66	Armatoside I	<i>A.armatus</i>	[122]
67	Armatoside II	<i>A.armatus</i>	[122]
68	Malonylastragaloside I	<i>A.membranaceus</i>	[129]
		<i>A.mongholicus</i>	[129]
69	Huangqiyenine D	<i>A.membranaceus</i>	[130]
70	Cycloalgénine	<i>A.zahlbruckneri</i>	[131]
71	Cycloalpioside B	<i>A.alopecurus</i>	[132]
72	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20R, 23S, 24S)-6, 6, 23,25-tetrahydroxy-20,24-epoxy-9,19-cyclolanostan-3-yl-2-O- α -L-arabinopyranosyl- β -D-xylopyranoside	<i>A.campylosema</i>	[123]
73	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20R, 23S, 24S)-23-(Acetyloxy)-3- {[2-O- (α -L- arabinopyranosyl)- β -D-xylosyl]oxy}-6,25-dihydroxy-20,24-epoxy-9,19 cyclolanostan-16-yl-2-hydroxyacetate	<i>A.campylosema</i>	[123]
74	Cycloalpioside A	<i>A.alopecurus</i>	[133]
75	Cycloalpioside C	<i>A.alopecurus</i>	[134]
76	Cycloalpioside D	<i>A.alopecurus</i>	[135]
77	Huangqiyenine A	<i>A.membranaceus</i>	[136]

78	Cyclogalagénine	<i>A.bungeanus</i>	[109]
		<i>A.caucasicus</i>	[137]
79	Cyclogaleginoside A	<i>A.bungeanus</i>	[109]
80	Cyclogaleginoside B	<i>A.bungeanus</i>	[109]
81	Cyclogaleginoside D	<i>A.galegiformis</i>	[138]
82	Cyclogaleginoside E	<i>A.galegiformis</i>	[139]
83	Cycloascauloside A	<i>A.caucasicus</i>	[140]
84	Cyclosiversioside H	<i>A.flexus</i>	[99]
85	(3 β , 9 β , 16 β , 24 <i>R</i>)-25-Hydroxy-3-(β -D-xylopyranosyloxy)-20,24-epoxy-9,19-cyclolanostan-16-yl- β -D-glucopyranoside	<i>A.prusianus</i>	[141]
86	Cyclocanthogénine	<i>A.unifoliolatus</i>	[142]
		<i>A.caucasicus</i>	[143]
		<i>A.bungeanus</i>	[109]
87	Oleifolioside A	<i>A.oleifolius</i>	[97]
88	Oleifolioside B	<i>A.oleifolius</i>	[97]
		<i>A.icmadophilus</i>	[82]
89	Cyclocanthoside A	<i>A. tragacantha</i>	[144]
		<i>A.ernestii</i>	[120]
90	Cyclocanthoside B	<i>A.tragacantha</i>	[144]
91	Cyclocanthoside C	<i>A.tragacantha</i>	[144]
92	Cyclocanthoside E	<i>A.tragacantha</i>	[144]
		<i>A.caucasicus</i>	[143]
		<i>A.bungeanus</i>	[109]
93	Cyclocanthoside G	<i>A.tragacantha</i>	[144]
94	Cyclochivinoside B	<i>A.chiwensis or chinensis</i>	[145]
95	Cyclochivinoside C	<i>A.chiwensis or chinensis</i>	[119]
96	Astramembranoside B	<i>A.membranaceus</i>	[124]
97	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-6, 24, 25-trihydroxy-3-(β -D-xylopyrano-syloxy)-9,19-cyclolanostan-16-yl β - D- glucopyranoside	<i>A.amblolepis</i>	[146]
98	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-6,16, 24-trihydroxy-3-(β -D-xylopyranosyloxy)- 9,19-cyclolanostan-25-yl- β -D- glucopyranoside	<i>A.amblolepis</i>	[146]
		<i>A.ernestii</i>	[120]
99	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-3- {[2- <i>O</i> -(β -D-glucopyranosyl)- β -D-xylopyranosyl]oxy}-6,16,24-trihydroxy-9,19-cyclolanostan-25-yl- β -D-glucoside	<i>A.amblolepis</i>	[146]
100	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-24-(β -D-glucopyranosyloxy)-6,16-dihydroxy-3-(β -D-xylopyranosyloxy)-9,19-cyclolanostan-25-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.amblolepis</i>	[146]
101	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-6-(α -L-arabinopyranosyloxy)-16-(β -D-glucopyranosyloxy)-3,25-dihydroxy-9,19-cyclolanostan-24-yl β -D-glucoside	<i>A.amblolepis</i>	[146]
102	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-6-(α -L-arabinopyranosyl oxy)-16-(β -D-glucopyranosyloxy)-3,24-dihydroxy-9,19-cyclolanostan-25-yl β -D-glucoside	<i>A.amblolepis</i>	[146]
103	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>) 3- {[3- <i>O</i> -Acetyl-2- <i>O</i> -(α - L-arabinopyranosyl)- α - L-arabinopyranosyl] oxy}-16,24,25-trihydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D- glucopyranoside	<i>A.icmadophilus</i>	[95]
104	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24 <i>S</i>)-3- {[6-Deoxy- α -L-manno-	<i>A.icmadophilus</i>	[95]

	pyranosyl-(1→2)- α - L-arabinopyranosyl-(1→2)-yl β -D-xylopyranosyl]oxy}-16,24,25-trihydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D- glucopyranoside		
105	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24S)-3- {[3,4-Di-O-acetyl-2-O-(α - L-arabinopyranosyl)- α - L-arabinopyranosyl]oxy}-16,24,25-trihydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.icmadophilus</i>	[95]
106	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24S)-24-[(4-O-Acetyl- α - L-arabinopyranosyl)oxy]-16-(acetyloxy)-3- {[2-O-(6-deoxy- α - L-mannopyranosyl)- β -D-xylopyranosyl]oxy}-25-hydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
107	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24S)-16-(Acetyloxy)-24-(α -L-arabino-pyranosyloxy)-3-[[2-O-(6-deoxy- α - L-mannopyranosyl)- β -D-xylopyranosyl]oxy]-25-hydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
108	Caspicuside II	<i>A.caspicus</i>	[84]
109	Trojanoside C	<i>A.trojanus</i>	[88]
110	Trojanoside D	<i>A.trojanus</i>	[88]
111	Trojanoside E	<i>A.trojanus</i>	[88]
112	Trojanoside F	<i>A.trojanus</i>	[88]
113	Agroastragaloside I	<i>A.membranaceus</i>	[147]
114	Agroastragaloside II	<i>A.membranaceus</i>	[148]
115	Cephalotoside A	<i>A.cephalotes</i> var. <i>brevicalyx</i>	[149]
116	Brachyoside B	<i>A.brachypterus</i>	[114]
117	Brachyoside C	<i>A.brachypterus</i>	[114]
118	Hareftoside B	<i>A. hareftae</i>	[150]
119	Askendoside C	<i>A.campylosema</i>	[123]
		<i>A.glycyphyllos</i>	[127]
120	Askendoside F	<i>A.taschkendicus</i>	[151]
		<i>A.glycyphyllos</i>	[127]
121	Askendoside G	<i>A.taschkendicus</i>	[151]
		<i>A.campylosema</i>	[123]
122	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 24S)-6-(Acetyloxy)-16, 24, 25 trihydroxy-9,19-cyclolanostan-3-yl β -D-xylopyranoside	<i>A.boeticus</i>	[152]
123	Cyclounifolioside A	<i>A.unifoliolatus</i>	[153]
124	Cyclounifolioside D	<i>A.unifoliolatus</i>	[154]
		<i>A.flexus</i>	[155]
125	Alexandroside I (cyclounifolioside C)	<i>A.alexandrinus</i>	[156]
		<i>A.mongholicus</i>	[157]
		<i>A.unifoliolatus</i>	[142]
126	Eremophiloside A	<i>A.eremophilus</i>	[158]
127	Eremophiloside B	<i>A.eremophilus</i>	[158]
		<i>A.cicer</i>	[96]
128	Ciceroside A	<i>A.cicer</i>	[96]
129	Ciceroside B	<i>A.cicer</i>	[96]
130	Mongholicoside I	<i>A.mongholicus</i>	[159]

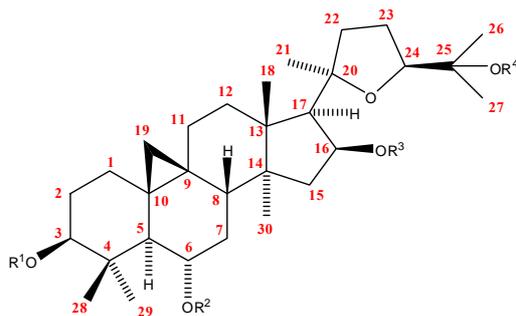
131	Mongholicoside II	<i>A.mongholicus</i>	[159]
132	Kahiricoside II	<i>A.kahiricus</i>	[160]
133	Kahiricoside III	<i>A.kahiricus</i>	[160]
134	Kahiricoside IV	<i>A.kahiricus</i>	[160]
135	Kahiricoside V	<i>A.kahiricus</i>	[160]
136	Mongholicoside A	<i>A.mongholicus</i>	[161]
137	Mongholicoside B	<i>A.mongholicus</i>	[161]
138	Macrophyllosaponine A	<i>A.oleifolius</i>	[162]
139	Macrophyllosaponine B	<i>A.oleifolius</i>	[162]
140	Macrophyllosaponine C	<i>A.oleifolius</i>	[162]
141	Macrophyllosaponine D	<i>A.oleifolius</i>	[162]
142	Macrophyllosaponine E	<i>A.oleifolius</i>	[163]
143	Cyclomacrogénine B	<i>A.macropus</i>	[164]
144	Cyclomacroside C	<i>A.macropus</i>	[165]
145	Cyclomacroside D	<i>A.macropus</i>	[166]
146	Cyclomacroside B	<i>A.macropus</i>	[167]
147	Cyclomacroside E	<i>A.macropus</i>	[168]
148	Cyclomacroside A	<i>A.macropus</i>	[169]
149	Cycloorbicoside D	<i>A.orbiculatus</i>	[170]
150	Cycloorbigénine C	<i>A.orbiculatus</i>	[171]
151	Eremophiloside C	<i>A.eremophilus</i>	[158]
152	Eremophiloside D	<i>A.eremophilus</i>	[158]
153	3- <i>O</i> - β -D-xylopyranosyl-3 β , 6 α , 16 β , 20(<i>S</i>), 24(<i>S</i>), 25-hexahydroxycycloartane	<i>A. schottianus</i>	[172]
154	3- <i>O</i> -[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-16- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-3 β , 6 α , 16 β , 20(<i>S</i>), 24(<i>R</i>), 25 hexahydroxycycloartane.	<i>A.stereocalyx</i>	[173]
155	3- <i>O</i> -[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-xylopyranosyl]-3 β , 6 α , 16 β , 20(<i>S</i>), 24(<i>R</i>), 25-hexahydroxycycloartane.	<i>A.stereocalyx</i>	[173]
156	3- <i>O</i> -[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]-3 β , 6 α , 16 β , 20(<i>S</i>), 24(<i>R</i>), 25-hexahydroxycycloartane	<i>A.stereocalyx</i>	[173]
157	3- <i>O</i> -[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]-24- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-3 β , 6 α , 16 β , 24(<i>R</i>), 25-pentahydroxycycloartane	<i>A.stereocalyx</i>	[173]
158	3- <i>O</i> -[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]-16- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-3 β , 6 α , 16 β , 24(<i>R</i>), 25-pentahydroxycycloartane.	<i>A.stereocalyx</i>	[173]
159	3- <i>O</i> -{ α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl}-3 β , 6 α , 16 β , 24(<i>R</i>), 25-pentahydroxycycloartane.	<i>A.stereocalyx</i>	[173]
160	Cyclocéphalogénine	<i>A.zahlbruckneri</i>	[131]
		<i>A.caucasicus</i>	[137]
161	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20 <i>R</i> , 24 <i>S</i>)-20,25-Epoxy-6,16-dihydroxy-3-(β -D-xylopyranosyloxy)-9,19-cyclolanostan-24-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.caprinus</i>	[174]
162	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20 <i>R</i> , 24 <i>S</i>)-24-(Acetyloxy)-20,25-epoxy-6,16-dihydroxy-9,19-cyclolanostan	<i>A.peregrinus</i>	[102]

	-3-yl 6- <i>O</i> -(acetyloxy) -2- <i>O</i> -(6-deoxy- α -L-mannopyranosyl) - β -D-glucopyranoside		
163	Cyclotrisectoside	<i>A.dissectus</i>	[100]
164	Cycloascauloside B	<i>A.caucasicus</i>	[175]
		<i>A.wiedemannianus</i>	[85]
165	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20 <i>R</i> , 24 <i>S</i>)-3-[(2- <i>O</i> - α -L-arabinopyranosyl- β -D-xylopyranosyl) oxy]-20,25-epoxy-16,24 dihydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.icmadophilus</i>	[95]
166	(3 β , 6 α , 9 β , 16 β , 20 <i>R</i> , 24 <i>S</i>)-3-[[<i>O</i> -6-Deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> - α -L-arabinopyranosyl -(1 \rightarrow 2) - β -D-xylopyranosyl] oxy]-20,25-epoxy-16,24-dihydroxy-9,19-cyclolanostan-6-yl β -D-glucopyranoside	<i>A.icmadophilus</i>	[95]
167	Cyclocanthoside F	<i>A.tragacantha</i>	[176]
168	Cyclodissectoside	<i>A.dissectus</i>	[177]
169	Cyclocephaloside I	<i>A.microcephalus</i>	[178]
170	20 <i>R</i> , 25-epoxy-3- <i>O</i> - β -D -xylopyranosyl-24- <i>O</i> - β -D -glucopyranosyl-3 β , 6 α , 16 β , 24 α -tetrahydroxycycloartane	<i>A. schottianus</i>	[179]
171	20 <i>R</i> , 25-epoxy-3- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- β -D -xylopyranosyl-24- <i>O</i> - β -D -glucopyranosyl-3 β , 6 α , 16 β , 24 α -tetrahydroxycycloartane	<i>A. schottianus</i>	[179]
172	Tomentoside I	<i>A.tomentosus</i>	[180]
173	Tomentoside II	<i>A.tomentosus</i>	[181]
174	Deacetyltomentoside I	<i>A.tomentosus</i>	[182]
175	Tomentoside III	<i>A.tomentosus</i>	[182]
176	Tomentoside IV	<i>A.tomentosus</i>	[182]
177	(16 β , 23 <i>R</i>)-6 α -Hydroxy-23-methoxy-16,23-epoxy-24, 25, 26,27-tetranor-9,19-cyclolanosta-3- <i>O</i> - β - xylopyranoside	<i>A.bicuspis</i>	[82]
178	Eremophiloside H	<i>A.eremophilus</i>	[158]
179	Eremophiloside I	<i>A.eremophilus</i>	[158]
180	6 α -Hydroxy-3- <i>O</i> - β -xylopyranosyloxy-24, 25,26, 27-tetranor-9,19-cyclolanosta-16,23-lactone	<i>A.bicuspis</i>	[82]
181	Eremophiloside E	<i>A.eremophilus</i>	[158]
182	Eremophiloside F	<i>A.eremophilus</i>	[158]
183	Eremophiloside G	<i>A.eremophilus</i>	[158]
184	(9 β , 23 <i>R</i> , 24 <i>S</i> , 25 <i>R</i> , 26 <i>S</i>)-16 β , 23; 23, 26; 24,25-Triepoxy-6 α , 26- dihydroxy-9,19-cyclolanosta-3-yl- β -D- xylopyranoside	<i>A.bicuspis</i>	[82]
185	Eremophiloside J	<i>A.eremophilus</i>	[158]
186	Eremophiloside K	<i>A.eremophilus</i>	[158]
187	Cycloorbicoside B	<i>A. orbiculatus</i>	[183]
188	Cycloorbicoside C	<i>A.orbiculatus</i>	[184]
189	(9 β , 20 <i>R</i> , 24 <i>R</i>)-16 β , 24; 20, 24-Diepoxy-6 α , 23 α , 25-trihydroxy-9,19-cyclolanostan-3-yl 2- <i>O</i> - α -L-arabinopyranosyl- β -D-xylopyranoside	<i>A.campylosema</i>	[123]
190	(16 β , 20 <i>S</i> , 24 <i>R</i>) 5 α , 9 α ; 20,24-Diepoxy-2 α , 3 β , 25-trihydroxy-9,10-sécocycloarta-1(10), 6(7)-dien-16-yl- β -D-glucopyranosyl	<i>A.prusianus</i>	[141]

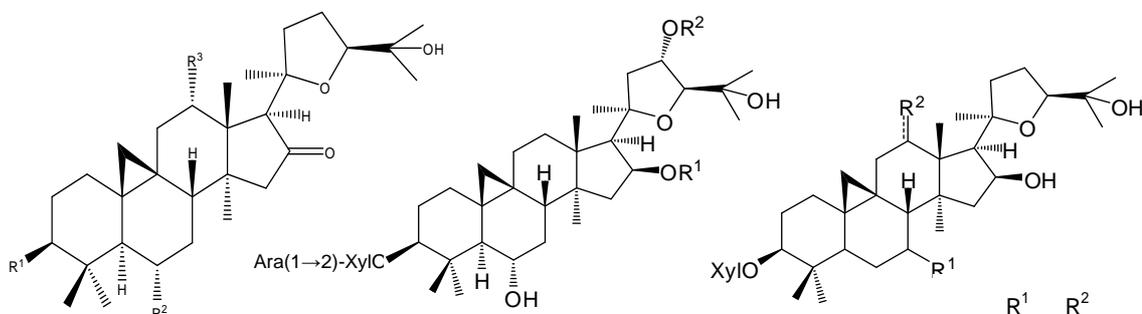
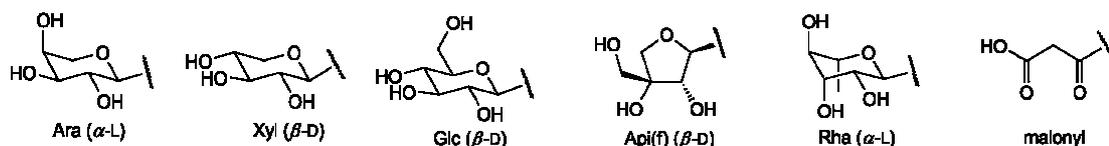
191	Secomacrogénine B	<i>A.macropus</i>	[157]
192	Huangqiyanine E	<i>A.membranaceus</i>	[185]
193	Huangqiyanine F	<i>A.membranaceus</i>	[185]
194	Astragalone	<i>A.leucocephalus</i>	[83]
195	Astragalene	<i>A.leucocephalus</i>	[83]
196	Sieversigénine	<i>A.leucocephalus</i>	[83]
197	Orbigénine	<i>A.orbiculatus</i>	[186]
198	Orbicoside	<i>A.orbiculatus</i>	[187]
199	Azukisaponine II	<i>A. tribuloides</i>	[188]
200	Azukisaponine V (hispidacine)	<i>A. tribuloides</i>	[188]
		<i>A.danicus</i>	[79]
		<i>A.inopinatus</i>	[79]
		<i>A.trigonus</i>	[189]
		<i>A.flavescens</i>	[88]
		<i>A.icmadophilus</i>	[95]
		<i>A.cruciatus</i>	[190]
201	Astragaloside VIII	<i>A.danicus</i>	[79]
		<i>A.kahiricus</i>	[92]
		<i>A.caprinus</i>	[191]
		<i>A.flavescens</i>	[89]
		<i>A.icmadophilus</i>	[95]
		<i>A.cruciatus</i>	[190]
202	Acide (3 β , 22 β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl β - D-glucopyranosiduronique	<i>A.danicus</i>	[79]
		<i>A.suberi</i>	[192]
203	Acide (3 β , 22 β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl 2-O- β - D-xylopyranosyl- β - D-glucopyranosiduronique	<i>A.danicus</i>	[79]
		<i>A.inopinatus</i>	[79]
204	Acide (3 β , 22 β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl-2-O- β - D-glucopyranosyl- β - D-glucopyranosiduronique	<i>A.danicus</i>	[79]
		<i>A.inopinatus</i>	[79]
205	(3 β , 22 β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl- β - D-glucopyranoside	<i>A.suberi</i>	[192]
206	(3 β , 22 β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl-2-O- β - D-galactopyranosyl- β - D-glucopyranoside	<i>A.suberi</i>	[192]
207	(3 β , 22 β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β - D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β - D-glucopyranoside	<i>A.suberi</i>	[192]
208	Soyasaponine I	<i>A.suberi</i>	[192]
		<i>A.trimestris</i>	[193]
209	Soyasapogenol B	<i>A.caprinus</i>	[191]
210	Acide (3 β , 22 β)-22-(β - D-apiofuranosyloxy)-24-hydroxyolean-12-en-3-yl 2-O-(6-deoxy- α -L-mannopyranosyl)- β - D-glucopyranosiduronique	<i>A.caprinus</i>	[191]
211	Azukisaponine V methyl ester	<i>A.membranaceus</i>	[124]
		<i>A.icmadophilus</i>	[95]
212	Soyasaponine III	<i>A.annularis</i>	[193]
213	(3 β , 22 β)-3,24-Dihydroxyolean-12-en-22-yl 6-deoxy-2-O- β - D-glucosyl- α -L- mannopyranoside	<i>A.icmadophilus</i>	[95]
214	(3 β , 22 β)-11, 22, 24-Trihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-	<i>A.suberi</i>	[80]

	galactopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranoside		
215	Acide (3β, 22β)-22,24-Dihydroxy-11-oxoolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-galactopyranosyl- (1→2)-β- D-glucopyranosiduronique	<i>A.suberi</i>	[192]
216	Acide (3β, 22β)-22,24-Dihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranosyl-(1→3)-β- D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosiduronique	<i>A.trigonus</i>	[191]
217	Acide (3β, 21α, 22β)-21, 22, 24, 29-tetrahydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-xylopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranosiduronique	<i>A.flavescens</i>	[89]
218	Acide (3β, 21α, 22β)-21, 22, 24, 29-tetrahydroxyolean-12-en-3-yl-6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranosiduronique	<i>A.flavescens</i>	[89]
219	Acide (3β, 21α, 22β)-22-(β-D-glucopyranosyloxy)-21, 24, 29-trihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucosiduronique	<i>A.flavescens</i>	[89]
220	Acide (3β, 21α, 22β)-22-(β-D-Glucopyranosyloxy)-21, 24, 29-trihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranosyl-(1→2)-β- D-glucosiduronique	<i>A.flavescens</i>	[89]
221	Acide (3β, 21α, 22β)-22-(α-L-arabinopyranosyloxy)-21, 24, 29-trihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-xylopyranosyl-(1→2)-β- D-glucosiduronique	<i>A.flavescens</i>	[89]
222	Acide (3β, 21α, 22β)-22-(α-L-arabinosyloxy)-21, 24, 29-trihydroxyolean-12-en-3-yl 6-deoxy-α-L-mannopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranosyl-(1→2)-β- D-glucosiduronique	<i>A.flavescens</i>	[89]
223	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-Xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-21-O-α-L-rhamnopyranosyl-3β,21β,22α,24-Tetrahydroxyolean-12-ene	<i>A.tauricolus</i>	[194]
224	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-21-O-α-L-rhamnopyranosyl-3β, 21β, 22α, 24-tetrahydroxyolean-12-ene	<i>A.tauricolus</i>	[194]
225	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-3β, 21β, 22α, 24,29-pentahydroxyolean-12-ene	<i>A.tauricolus</i>	[194]
226	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-Xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-22-O-α-L-rhamnopyranosyl-3β, 22β, 24-trihydroxyolean-12-ene	<i>A.tauricolus</i>	[194]
227	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-29-O-β-D-glucopyranosyl-3β, 22β, 24,29-tetrahydroxyolean-12-ene	<i>A.tauricolus</i>	[194]
228	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-xylo-	<i>A. angustifolius</i>	[195]

	pyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-3β, 21β, 22α,24,29-pentahydroxyolean-12-ene		
229	Acide 3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-3β, 22β, 24-trihydroxyolean-12-en-29-oïque	<i>A. angustifolius</i>	[195]
230	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-Xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-21-O-α-L-rhamnopyranosyl-3β,21β,22α,24-Tetrahydroxyolean-12-ene	<i>A. tauricolus</i>	[194]
231	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-21-O-α-L-rhamnopyranosyl-3β, 21β, 22α, 24-tetrahydroxyolean-12-ene	<i>A. tauricolus</i>	[194]
232	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-3β, 21β, 22α, 24,29-pentahydroxyolean-12-ene	<i>A. tauricolus</i>	[194]
233	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-Xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-22-O-α-L-rhamnopyranosyl-3β, 22β, 24-trihydroxyolean-12-ene	<i>A. tauricolus</i>	[194]
234	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-29-O-β-D-glucopyranosyl-3β, 22β, 24,29-tetrahydroxyolean-12-ene	<i>A. tauricolus</i>	[194]
235	3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-3β, 21β, 22α,24,29-pentahydroxyolean-12-ene	<i>A. angustifolius</i>	[195]
236	Acide 3-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-xylopyranosyl(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-3β, 22β, 24-trihydroxyolean-12-en-29-oïque	<i>A. angustifolius</i>	[195]
237	Acide oléanolique	<i>A. unifoliolatus</i>	[153]
238	Acide ursolique	<i>A. tribuloides</i>	[188]
239	Npehinone	<i>A. mongholicus</i>	[196]
240	Acide bétulinique	<i>A. altaicus</i>	[197]
241	Acide (3β)-21,21-Dimethyl-3- {[2-O-(pentopyranosyl-4-ulose)-β- D-xylopyranosyl] oxy} olean-12-en-28-oïque	<i>A. corniculatus</i>	[198]
242	Acide (3β)-21,21-Dimethyl-3-(pentopyranosyl-4-uloseoxy)-olean-12-en-28-oïque	<i>A. corniculatus</i>	[198]
243	(3β, 21β)-19,19, 21-Trimethyl-28-oxo-21,28-epoxyolean-12-en-3-yl β- D-xylopyranoside	<i>A. corniculatus</i>	[199]

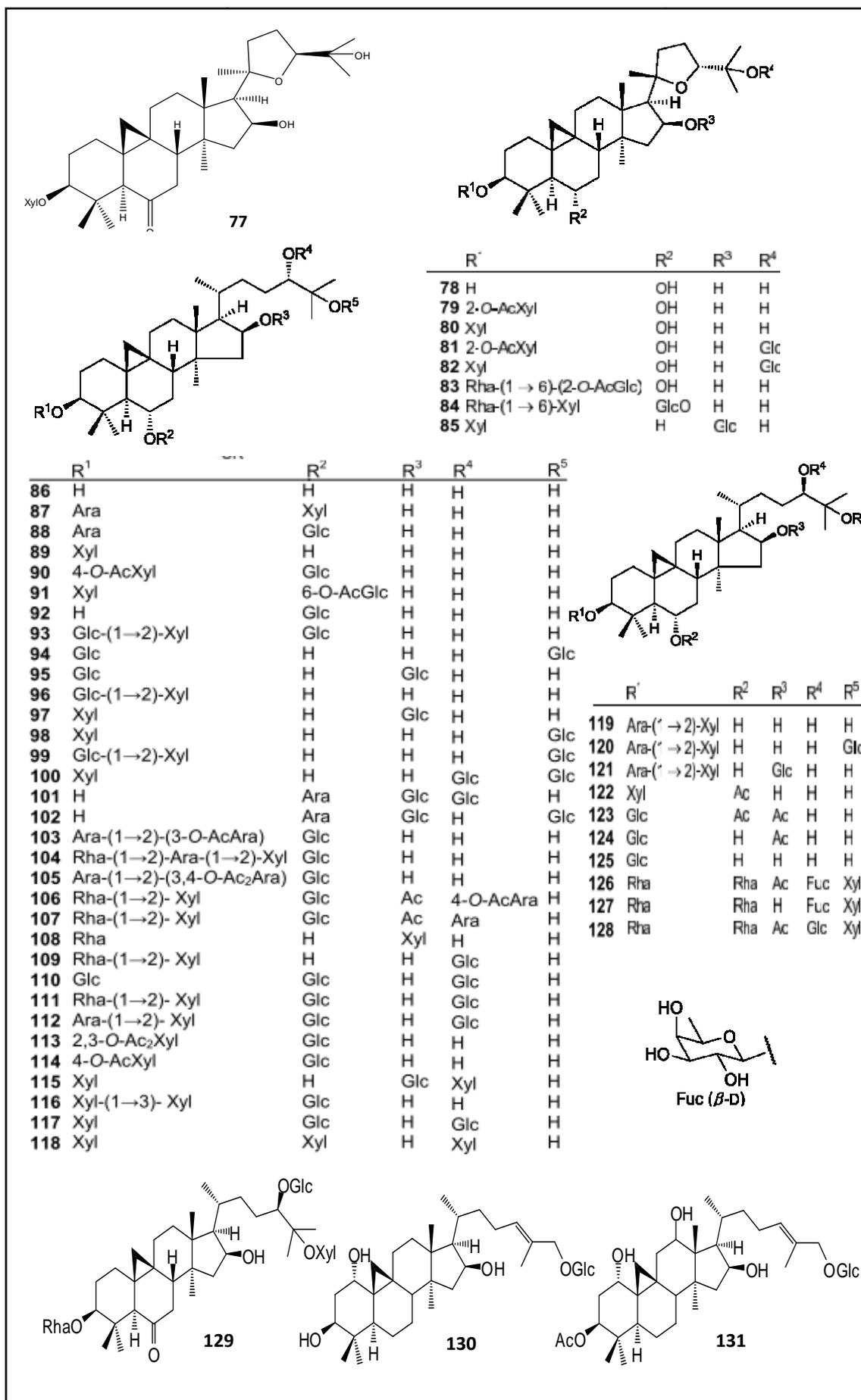


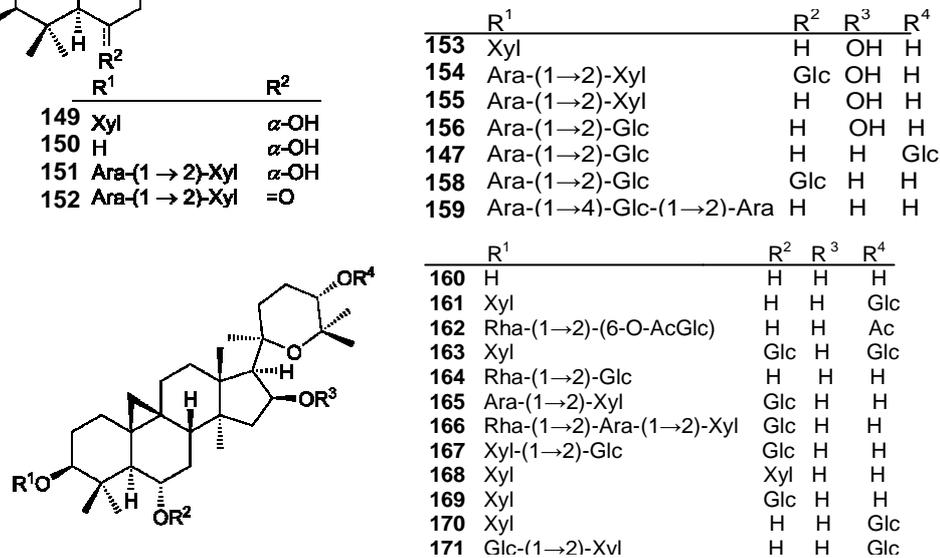
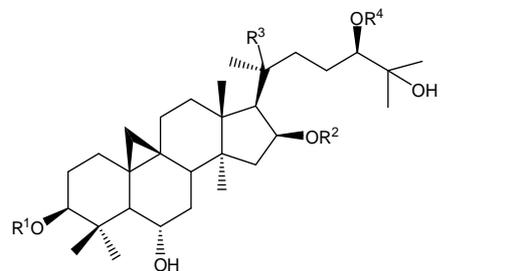
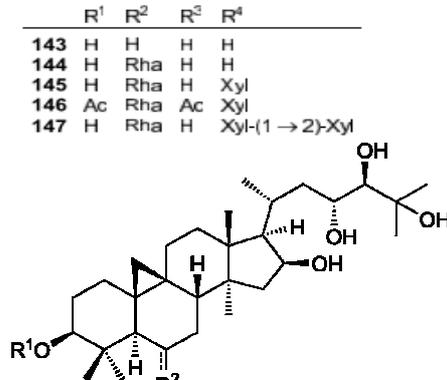
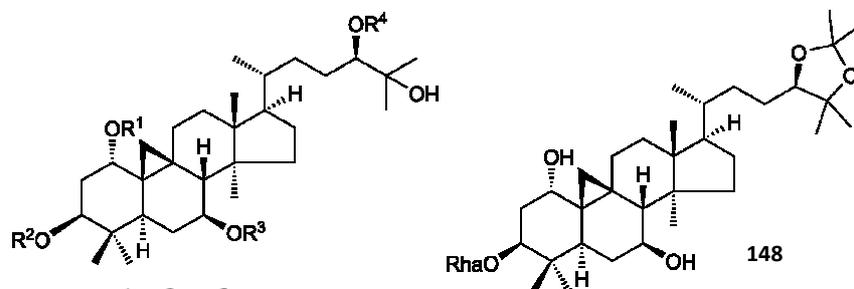
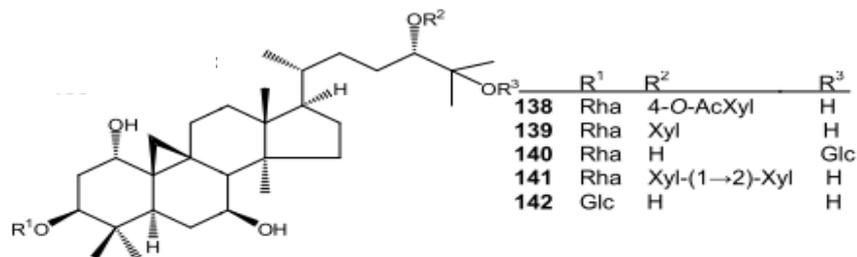
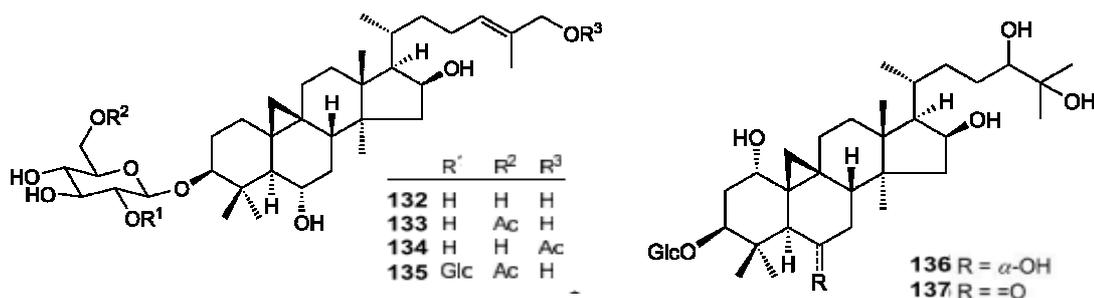
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴		R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1	H	H	H	H	35	Xyl	2-O-AcRha	H	H
2	Ara-(1→2)-(3-O-AcXyl)	Xyl	H	H	36	2-O-AcXyl	Rha	H	H
3	Ara-(1→2)-Xyl	Xyl	H	H	37	4-O-AcGlc	Glc	H	H
4	Xyl	Glc	Ac	H	38	Rha (1→2)-Xyl	H	H	Glc
5	Xyl	Xyl	H	Glc	39	Rha- (1→2)-(3-O-AcXyl)	H	H	Glc
6	2,3-O-Ac ₂ Xyl	Glc	Ac	H	40	Rha- (1→2)-(4-O-AcXyl)	H	H	Glc
7	Rha- (1→2)-(3,4-O-Ac ₂ Xyl)	Xyl	H	H	41	2-O-AcXyl	Glc	H	Glc
8	Xyl	Glc	Glc	H	42	Rha- (1→2)-(3-O-AcXyl)	Xyl	H	H
9	2,3,4-O-Ac ₃ Xyl	Xyl	H	H	43	Xyl	H	H	H
10	2,3-O-Ac ₂ Xyl	Xyl	H	H	44	2-O-AcXyl	Glc	H	H
11	2-O-AcXyl	Xyl	H	H	45	Xyl	Xyl	H	H
12	Xyl	Xyl	H	H	46	Rha	Xyl	H	H
13	Rha-(1→2)-Xyl	Xyl	H	H	47	2,3-O-Ac ₂ -4[(2E)-but-2-enoyl]Xyl	Xyl	H	H
14	2,3-O-Ac ₂ Xyl	Glc	H	H	48	6-O-AcGlc	H	H	H
15	2-O-AcXyl	Glc	H	H	49	Api(f)-(1→2)-Xyl	Glc	H	H
16	Glc-(1→2)-Xyl	H	H	H	50	2,3,4-O-Ac ₃ Xyl	Glc	H	H
17	Xyl	Glc	H	H	51	2,4-O-Ac ₂ Xyl	Glc	H	H
18	Xyl	Glc	H	Glc	52	3-O-AcXyl	Glc	H	H
19	Glc	H	H	H	53	Xyl	H	H	Glc
20	2-O-AcGlc	H	H	H	54	H	Xyl	H	H
21	3-O-AcXyl	H	H	H	55	Ara-(1→2)-Xyl	Xyl	H	H
22	Rha-(1→4)-Glc	H	H	H	56	Ara-(1→2)-(3-O-AcXyl)	Xyl	H	H
23	Rha-(1→4)-(3-O-AcGlc)	H	H	H	57	Ara-(1→2)-Xyl	H	H	H
24	Rha-(1→4)-(6-O-AcGlc)	H	H	H	58	Ara-(1→2)-Xyl	H	H	Glc
25	Glc-(1→2)-Glc	H	H	H	59	H	Xyl	H	Xyl
26	Rha-(1→2)-(6-O-AcGlc)	H	H	H	60	H	Glc	H	H
27	Api(f)-(1→2)-Glc	H	H	H	61	Ara-(1→2)-Xyl	Glc	H	H
28	Ara-(1→2)-Glc	H	H	H	62	Glc-(1→2)-Xyl	H	Xyl	H
29	Glc	H	H	Glc	63	Ara-(1→2)-(3-O-AcAra)	Glc	H	H
30	Api-(1→2)-Glc	H	H	Glc	64	Rha-(1→2)-Xyl	H	H	H
31	2,3-O-Ac ₂ -Xyl	H	H	H	65	Rha-(1→2)-Glc	H	H	Glc
32	2-O-AcXyl	H	H	H	66	2,3-O-Ac ₂ Xyl	Xyl	H	Glc
33	Xyl	Rha	H	H	67	2-O-AcXyl	Xyl	H	Glc
34	2-O-AcXyl	2-O-AcRha	H	H	68	2,3-O-Ac ₂ -4-O-malonylXyl	Glc	H	H
					69	Xyl	Ac	H	H

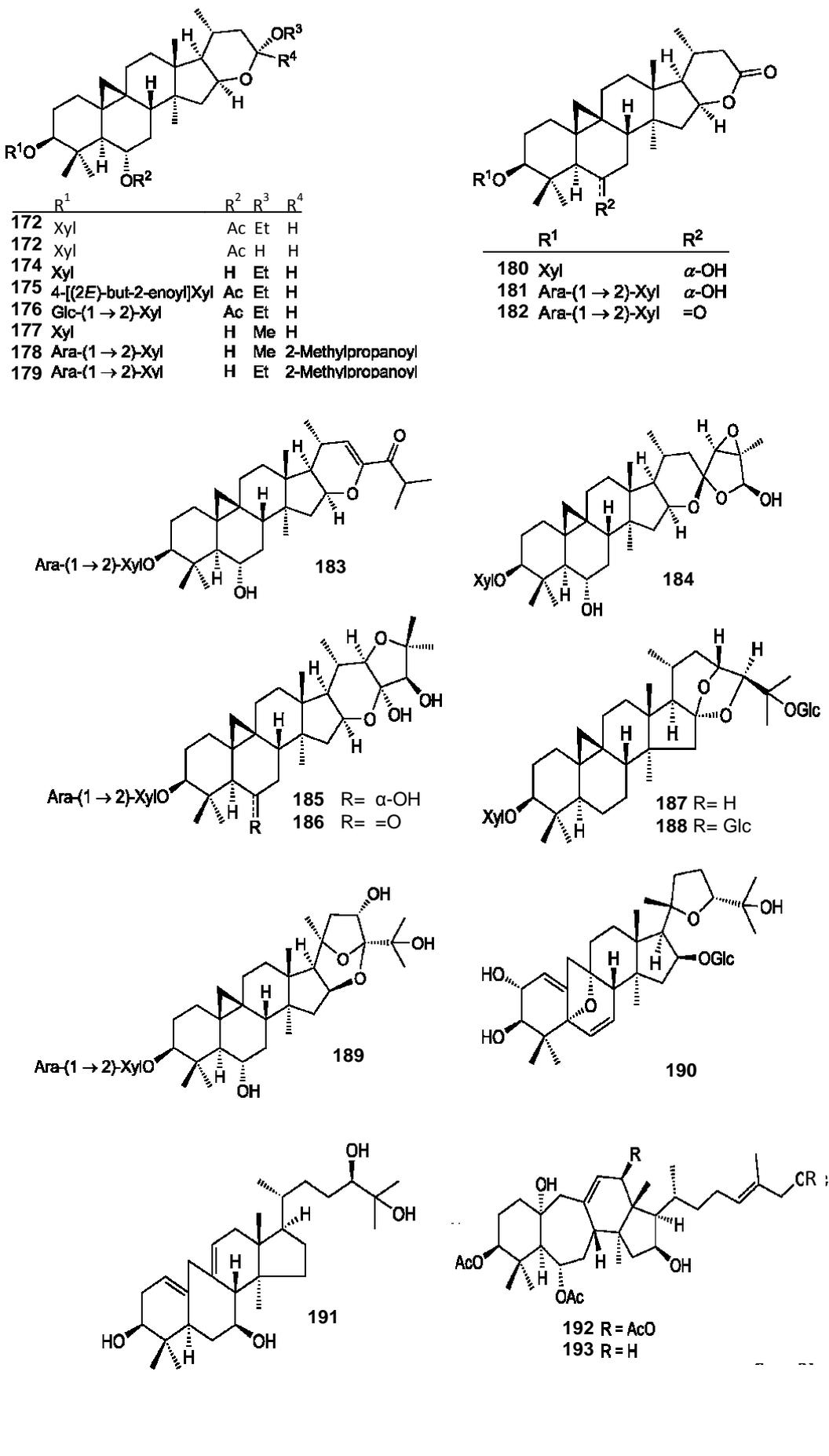


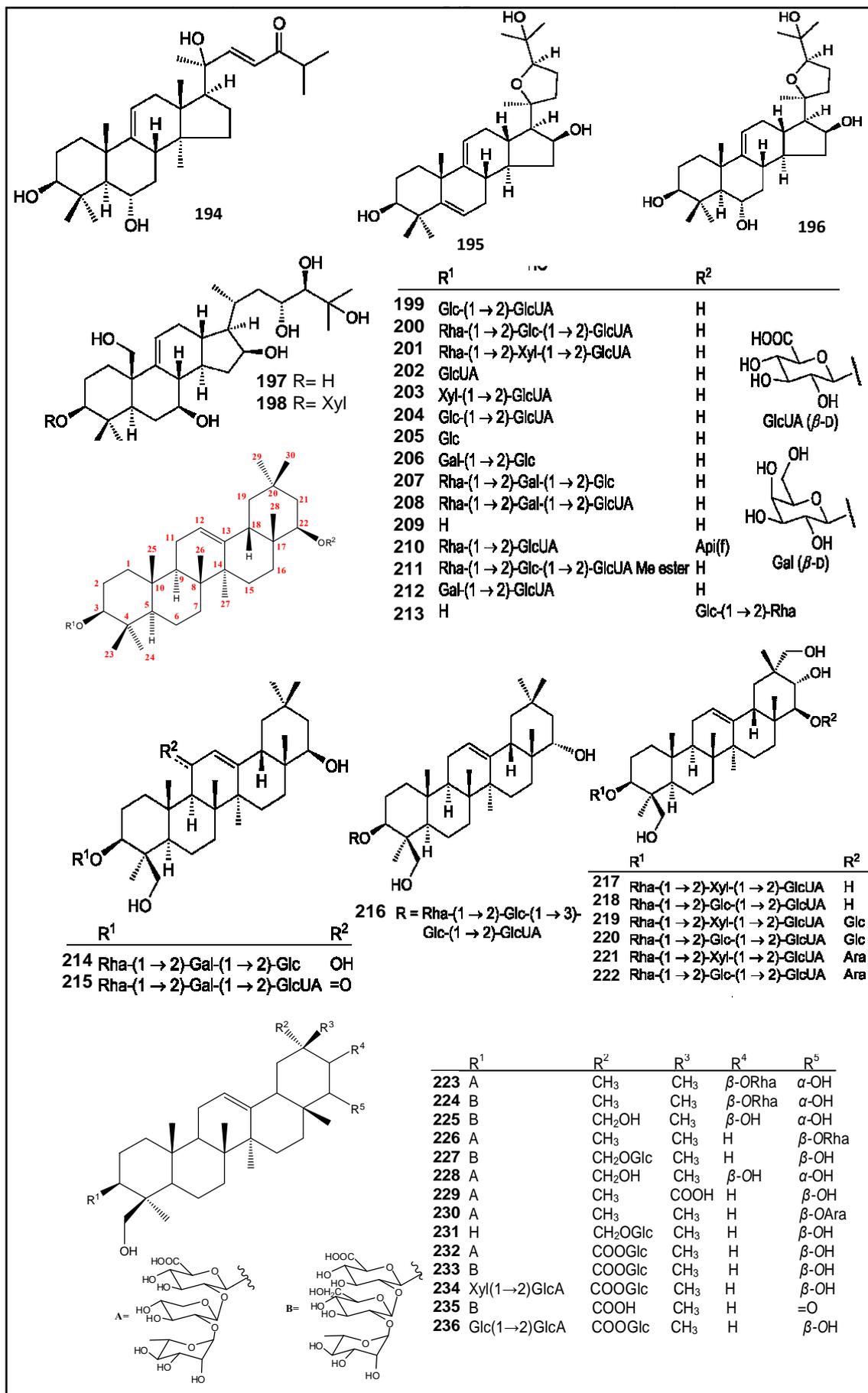
70 R¹ = OH, R² = OH, R³ = OH ; R¹ = R² = H
 71 R¹ = OXyl, R² = OH, R³ = OH ; R¹ = HOCH₂C(O), R² = Ac

R¹ R²
 74 H₂ =O
 75 H₂ OH
 76 OH H₂









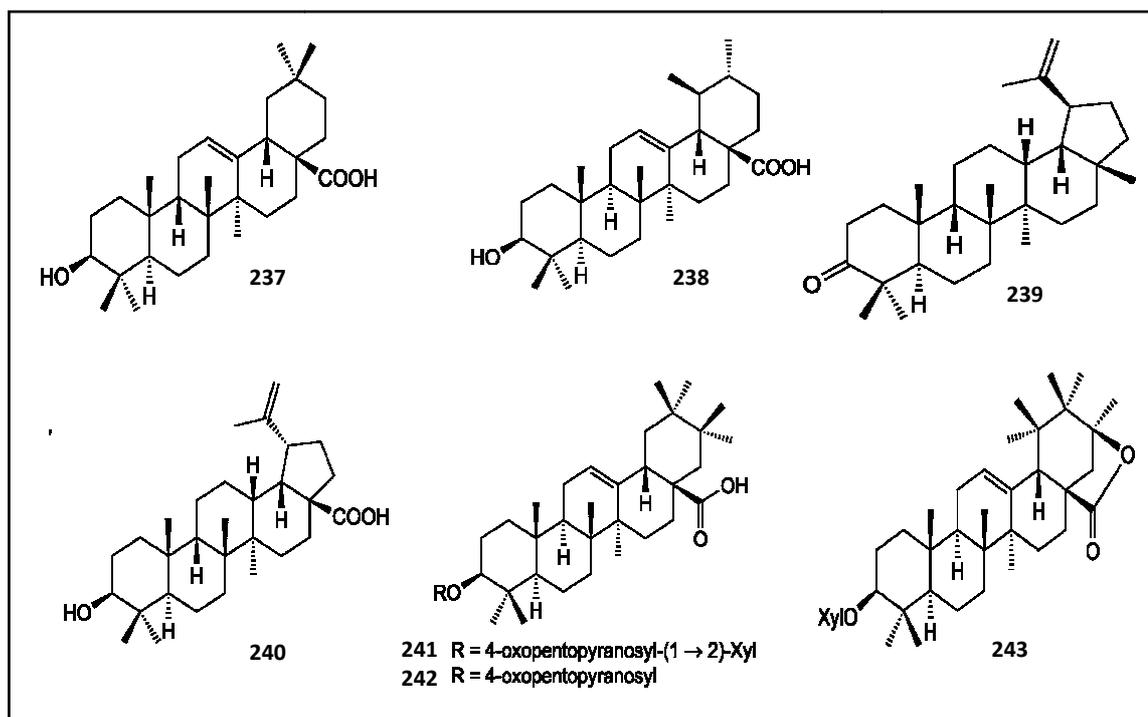


Figure 5 : Structure des saponines triterpéniques et sapogénines isolés du genre *Astragalus*

I.2.8.5. Flavonoïdes (tableau 2) : Après les terpénoïdes, les métabolites secondaires trouvés dans le genre *Astragalus* les plus abondants sont les flavonoïdes et leurs dérivés. Ils comprennent les flavones, les flavonols, les isoflavonoïdes, et autres types de flavonoïdes. Parmi eux, les flavonols présentent la majorité, suivie par les isoflavonoïdes. Les flavonoïdes d'*Astragalus* ont reçu beaucoup d'attention par suite de leur structure et leurs propriétés biologiques.

I.2.8.5.a. Flavones : 16 flavones, **244-259**, ont été isolés à partir de différentes espèces du genre.

I.2.8.5.b. Flavonols : les flavonols **260-313**, ont été isolés du genre *Astragalus*.
(3 dihydroflavonol **314-316** et un flavanone **317**)

I.2.8.5.c. Isoflavonoïdes : les isoflavonoïdes isolés du genre *Astragalus* peut être classifié dans trois types : les isoflavones, **318-347**, les isoflavanes, **248-355** et les pterocarpane, **356-364**.

De plus il a été rapporté une chalcone **365** et une aurone **367 (tableau 2)**.

Tableau 2 : Flavonoïdes isolés du genre *Astragalus*

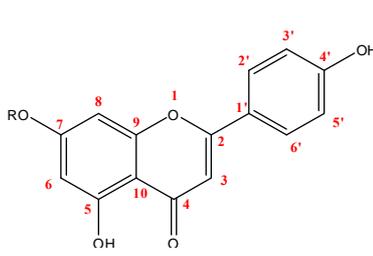
N°	Nom du composé	Espèces	Réf.
244	Apigénine	<i>A. lemna</i>	[200]
		<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. peregrinus</i>	[201]
		<i>A. eremophilus</i>	[202]
		<i>A. bungeanus</i>	[109]
		<i>A. propinquus</i>	[203]
245	Apigénin 7- <i>O</i> - α -L-rhamnoside	<i>A. trimestris</i>	[204]
246	Apigénin 7- β -D-glucopyranoside	<i>A. trimestris</i>	[204]
		<i>A. peregrinus</i>	[205]
247	Apigénin 7- <i>O</i> -rutinoside	<i>A. trimestris</i>	[204]
248	Apigénin 7- <i>O</i> -neohesperidoside	<i>A. peregrinus</i>	[201]
249	Apiine	<i>A. eremophilus</i>	[202]
250	Apigénin 7- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside	<i>A. trimestris</i>	[193]
251	Terniflorine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
252	Luteoline	<i>A. lemna</i>	[200]
		<i>A. peregrinus</i>	[201]
		<i>A. propinquus</i>	[203]
253	Graveobioside A	<i>A. eremophilus</i>	[202]
254	Graveobioside B	<i>A. eremophilus</i>	[202]
255	Salvigénine	<i>A. propinquus</i>	[203]
256	Sorbifoline	<i>A. annularis</i>	[193]
		<i>A. trimestris</i>	[193]
257	7-Hydroxyflavone	<i>A. microcephalus</i>	[206]
258	Cosmosiine	<i>A. ammodendron</i>	[207]
		<i>A. macropterum</i>	[208]
259	Vitexine	<i>A. lemna</i>	[200]
260	Kaempférol	<i>A. melilotoides</i>	[209]
		<i>A. corniculatus</i>	[210]
		<i>A. galegiformis</i>	[211]
		<i>A. asper</i>	[212]
		<i>A. beckari</i>	[213]
		<i>A. sieberi</i>	[214]
261	Trifoline	<i>A. galegifolius</i>	[215]
262	Astragaline (kaempférol 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside)	<i>A. tana</i>	[216]
		<i>A. spinosus</i>	[217]
		<i>A. galegiformis</i>	[211]
		<i>A. hamosus</i>	[218]
		<i>A. maximus</i>	[211]
		<i>A. asper</i>	[213]
263	Kaempférol 3, 7-di- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. spinosus</i>	[217]
		<i>A. tana</i>	[216]
264	Kaempférol 3- <i>O</i> - β -D-robinobioside	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. tana</i>	[216]
265	Nicotiflorine (kaempférol 3-rutinoside)	<i>A. tana</i>	[216]

		<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. eremophilus</i>	[202]
		<i>A. sieberi</i>	[214]
266	Kaempférol 3- <i>O</i> -gentiobioside	<i>A. spinosus</i>	[217]
267	Ascaside	<i>A. tana</i>	[216]
		<i>A. caucasicus</i>	[219]
268	Kaempférol-3- <i>O</i> -[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-galactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[220]
269	Kaempférol 3- <i>O</i> -{ β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)}- β -D-galactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[174]
270	Kaempférol 3- <i>O</i> -{ β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)] [α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[221]
271	Kaempférol 3- <i>O</i> -{ β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)] [α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-3- <i>trans-p</i> -coumaroylgalactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[221]
272	Kaempférol 3- <i>O</i> -{ β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)] [α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-3- <i>trans</i> -feruloylgalactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[221]
273	Kaempférol 3- <i>O</i> -{ β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)] [α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-4- <i>trans-p</i> -coumaroylgalactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[221]
274	Kaempférol 3- <i>O</i> -{ β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)] [α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-4- <i>trans</i> -feruloylgalactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[221]
275	Kaempférol 3- <i>O</i> - β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	<i>A. sinicus</i>	[222]
276	Kaempférol 3- <i>O</i> - α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranoside	<i>A. cruciatus</i>	[190]
277	Mauritanine	<i>A. sieberi</i>	[214]
278	Kumatakénine	<i>A. membranaceus</i>	[223]
279	Dactiline	<i>A. galegiformis</i>	[224]
		<i>A. lasioglottis</i>	[225]
280	Isorhamnetine	<i>A. novoascanicus</i>	[226]
		<i>A. corniculatus</i>	[210]
281	Isorhamnetin 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. tribuloides</i>	[188]
		<i>A. annularis</i>	[193]
282	Isorhamnetin 3- <i>O</i> - β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-galactopyranoside	<i>A. vulnerariae</i>	[227]
283	Isorhamnetin-3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopyranoside	<i>A. vulnerariae</i>	[227]
284	Narcissine (isorhamnetin-3- <i>O</i> - α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside)	<i>A. dasyanthus</i>	[228]
		<i>A. centralpinus</i>	[229]
		<i>A. eremophilus</i>	[202]
		<i>A. annularis</i>	[193]
		<i>A. corniculatus</i>	[210]
		<i>A. icmadophilus</i>	[95]

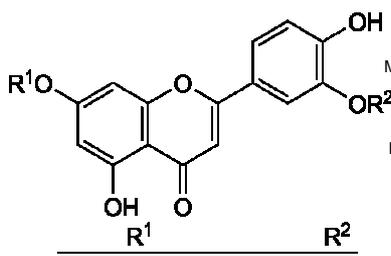
		<i>A. cruciatus</i>	[190]
285	Microcephaline I	<i>A. microcephalus</i>	[230]
286	Microcephaline II	<i>A. microcephalus</i>	[230]
287	Quercetine	<i>A. frigidus</i>	[231]
		<i>A. corniculatus</i>	[210]
		<i>A. asper</i>	[212]
		<i>A. beckari</i>	[213]
		<i>A. sieberi</i>	[214]
288	Quercetin 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. asper</i>	[212]
289	Rutine (quercetin 3- <i>O</i> -rutinoside)	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. corniculatus</i>	[210]
		<i>A. asper</i>	[212]
290	Quercetin 3- <i>O</i> -robinobioside	<i>A. verrucosus</i>	[108]
291	Quercetin 3- <i>O</i> -{[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)][β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)]}- β -D-galactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[220]
292	Flagaloside C	<i>A. galegiformis</i>	[211]
293	Flagaloside D	<i>A. galegiformis</i>	[211]
294	Hyperoside	<i>A. corniculatus</i>	[210]
		<i>A. hamosus</i>	[218]
295	Isoquercitrine	<i>A. hamosus</i>	[218]
		<i>A. corniculatus</i>	[210]
296	Quercetin 3- <i>O</i> - β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside	<i>A. sinicus</i>	[222]
297	Quercimeritrine	<i>A. flexus</i>	[232]
		<i>A. asper</i>	[215]
298	Rhamnetin 3- <i>O</i> -{[3-hydroxy-3-methylglutaroyl-(1 \rightarrow 6)]-[β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)]}- β -D-galactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[222]
299	Rhamnetine	<i>A. floccosifolius</i>	[233]
300	Rhamnocitrine	<i>A. hamosus</i>	[205]
301	Rhamnocitrin 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. hamosus</i>	[204]
302	Rhamnocitrin 3- <i>O</i> -gentiobioside	<i>A. hamosus</i>	[205]
303	Rhamnocitrin 3- <i>O</i> - β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside	<i>A. vogelii</i>	[202]
304	Rhamnocitrin 3- <i>O</i> -{[3-hydroxy-3-methylglutaroyl-(1 \rightarrow 6)][β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)]}- β -D-galactopyranoside	<i>A. caprinus</i>	[220]
305	Rhamnocitrin 4'- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside	<i>A. hamosus</i>	[218]
306	Rhamnocitrin 3- <i>O</i> - β -D-galactopyranosyl-4'- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. vogelii</i>	[202]
307	Complanatuside	<i>A. mongholicus</i>	[157]
308	Rhamnocitrin 3- <i>O</i> -{ β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl}-4'- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. vogelii</i>	[202]
309	Myricetine	<i>A. sinicus</i>	[222]

310	Myricetin 3'-O-β-D-glucopyranoside	<i>A. sinicus</i>	[222]
311	Myricetin 3'-O-β-D-xylopyranoside	<i>A. sinicus</i>	[222]
312	8-Methoxykaempferol-3-O-D-glucopyranosyl-4'-O-D-rhamnopyranoside	<i>A. spinosus</i>	[217]
313	5-Deoxykaempférol	<i>A. beckari</i>	[213]
314	Ampelopsine	<i>A. sinicus</i>	[222]
315	Ampelopsin 3'-O-β-D-glucopyranoside	<i>A. sinicus</i>	[222]
316	Ampelopsin 3'-O-β-D-xylopyranoside	<i>A. sinicus</i>	[222]
317	Liquiritigénine	<i>A. microcephalus</i>	[206]
		<i>A. membranaceus</i>	[234]
318	Formononetine	<i>A. clusii</i>	[235]
		<i>A. dahuricus</i>	[236]
319	Ononine (formononetin 7-O-β-D-glucopyranoside)	<i>A. mongholicus</i>	[237]
		<i>A. verrucosus</i>	[108]
320	Formononetin 7-O-(6-O-malonyl-β-D-	<i>A. mongholicus</i>	[237]
321	Formononetin 7-O-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside)	<i>A. mongholicus</i>	[238]
		<i>A. membranaceus</i>	[238]
322	Afromosine	<i>A. clusii</i>	[235]
323	Cajanine	<i>A. cicer</i>	[239]
324	Calycosine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. dahuricus</i>	[236]
325	Calycosin 7-O-(6-O-malonyl-β-D-glucopyranoside)	<i>A. mongholicus</i>	[237]
326	Calycosin 7-O-(6-O-butanoyl-β-D-glucopyranoside)	<i>A. mongholicus</i>	[240]
327	Calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside	<i>A. membranaceus</i>	[241]
328	Calycosin 7-O-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside)	<i>A. membranaceus</i>	[241]
		<i>A. mongholicus</i>	[242]
329	Calycosin 7-O-β-D-{6"-[(E)-but-2-enoyl]}-glucoside	<i>A. membracaceus</i>	[243]
330	Calycosin 7-O-β-D-(6"-acetyl)-glucoside	<i>A. membracaceus</i>	[243]
331	6"-Acetylononine	<i>A. membracaceus</i>	[243]
332	Ammopiptanoside	<i>A. membracaceus</i>	[243]
333	Daidzeine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. peregrinus</i>	[201]
		<i>A. membranaceus</i>	[234]
		<i>A. mongholicus</i>	[244]
334	Daidzine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. peregrinus</i>	[205]
335	Genisteine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. mongholicus</i>	[245]
336	Genistine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. mongholicus</i>	[245]
337	Pratenseine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
		<i>A. mongholicus</i>	[245]
		<i>A. membranaceus</i>	[238]
338	Pratensein 7-O-β-D-glucopyranoside	<i>A. mongholicus</i>	[244]
		<i>A. membranaceus</i>	[238]
339	7-Hydroxy-3',5'-dimethoxyisoflavone	<i>A. peregrinus</i>	[201]
340	5',7-Dihydroxy-3'-methoxyisoflavone	<i>A. mongholicus</i>	[246]
341	Odoratine	<i>A. mongholicus</i>	[157]
342	Odoratin 7-O-β-D-glucopyranoside	<i>A. mongholicus</i>	[157]

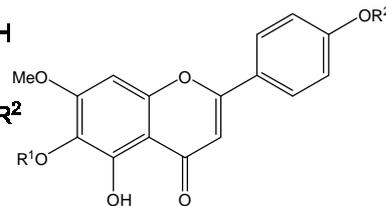
		<i>A. ernestii</i>	[120]
343	Afromosin 7- <i>O</i> - β -D -glucopyranoside	<i>A. membranaceus</i>	[238]
344	Afromosin 7- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -malonyl- β -D-glucopyranoside)	<i>A. membranaceus</i>	[238]
345	4', 5, 7-Trihydroxyisoflavone	<i>A. mongholicus</i>	[247]
346	Santal	<i>A. hoantchy</i>	[248]
347	Pseudobaptigénine	<i>A. verrucosus</i>	[108]
348	(3 <i>R</i>)-Isomucronulatol	<i>A. mongholicus</i>	[249]
		<i>A. dahuricus</i>	[236]
349	(3 <i>R</i>)-Isomucronulatol 7- <i>O</i> - β -D -glucopyranoside	<i>A. mongholicus</i>	[237]
		<i>A. dahuricus</i>	[236]
350	Astraisoflavan 7- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -malonyl- β -D-	<i>A. mongholicus</i>	[237]
351	Isomucronulatol 3',7-di- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. membranaceus</i>	[235]
352	3'-Hydroxy-2',4'-dimethoxyisoflavan-6- <i>O</i> - β -D -glucopyranoside	<i>A. hoantchy</i>	[248]
		<i>A. mongholicus</i>	[118]
		<i>A. ernestii</i>	[120]
353	(3 <i>R</i>)-2',8-Dihydroxy-4',7-dimethoxyisoflavane	<i>A. mongholicus</i>	[145]
354	8-Methoxyvestitol	<i>A. trimestris</i>	[193]
355	Pendulione (7-hydroxy-3',4' dimethoxyisoflavanquinone)	<i>A. hoantchy</i>	[248]
356	(6 <i>aR</i> , 11 <i>aR</i>)-3-Hydroxy-9,10-dimethoxypterocarpane	<i>A. mongholicus</i>	[246]
357	(6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-3-Hydroxy-9,10-dimethoxypterocarpan-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	<i>A. mongholicus</i>	[237]
		<i>A. dahuricus</i>	[236]
		<i>A. membranaceus</i>	[241]
358	Astrapterocarpan 3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -malonyl- β -D-glucopyranoside)	<i>A. mongholicus</i>	[237]
359	(-)-Methylinissolin 3- <i>O</i> -(6-acetyl- β -D-	<i>A. membranaceus</i>	[241]
360	(-)-Methylinissolin 3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -(<i>E</i>)-but-2-enoyl- β -D-glucopyranoside)	<i>A. membranaceus</i>	[241]
361	Licoagroside D	<i>A. membranaceus</i>	[243]
362	Vesticarpane	<i>A. membranaceus</i>	[243]
363	(-)-Methylinissoline	<i>A. membranaceus</i>	[243]
364	Maackiaine	<i>A. cicer</i>	[239]
		<i>A. verrucosus</i>	[108]
365	2',4, 4'-Trihydroxychalcone	<i>A. membranaceus</i>	[247]
366	Sophorophenolone	<i>A. membranaceus</i>	[235]
367	Sulfuretine	<i>A. microcephalus</i>	[250]



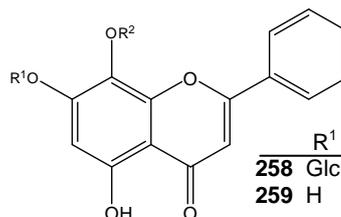
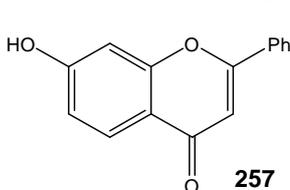
- 244 R = H
 245 R = Rha
 246 R = Glc
 247 R = Rha-(1 → 6)-Glc
 248 R = Rha-(1 → 2)-Glc
 249 R = Api(f)-(1 → 2)-Glc
 250 R = Glc-(1 → 3)-Glc
 251 R = 6-O-*p*-coumaroylGlc



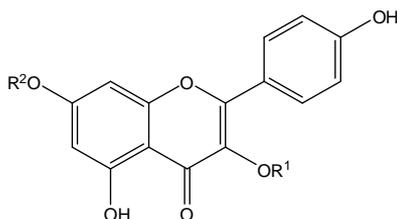
- | | R ¹ | R ² |
|-----|--------------------|----------------|
| 252 | H | H |
| 253 | Api(f)-(1 → 2)-Glc | H |
| 254 | Api(f)-(1 → 2)-Glc | Me |



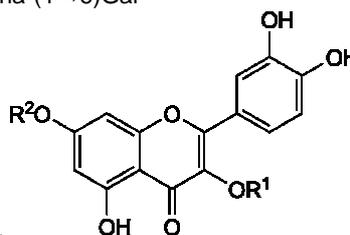
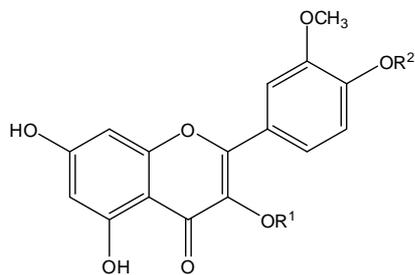
- | | R ¹ | R ² |
|-----|----------------|----------------|
| 255 | Me | Me |
| 256 | H | H |



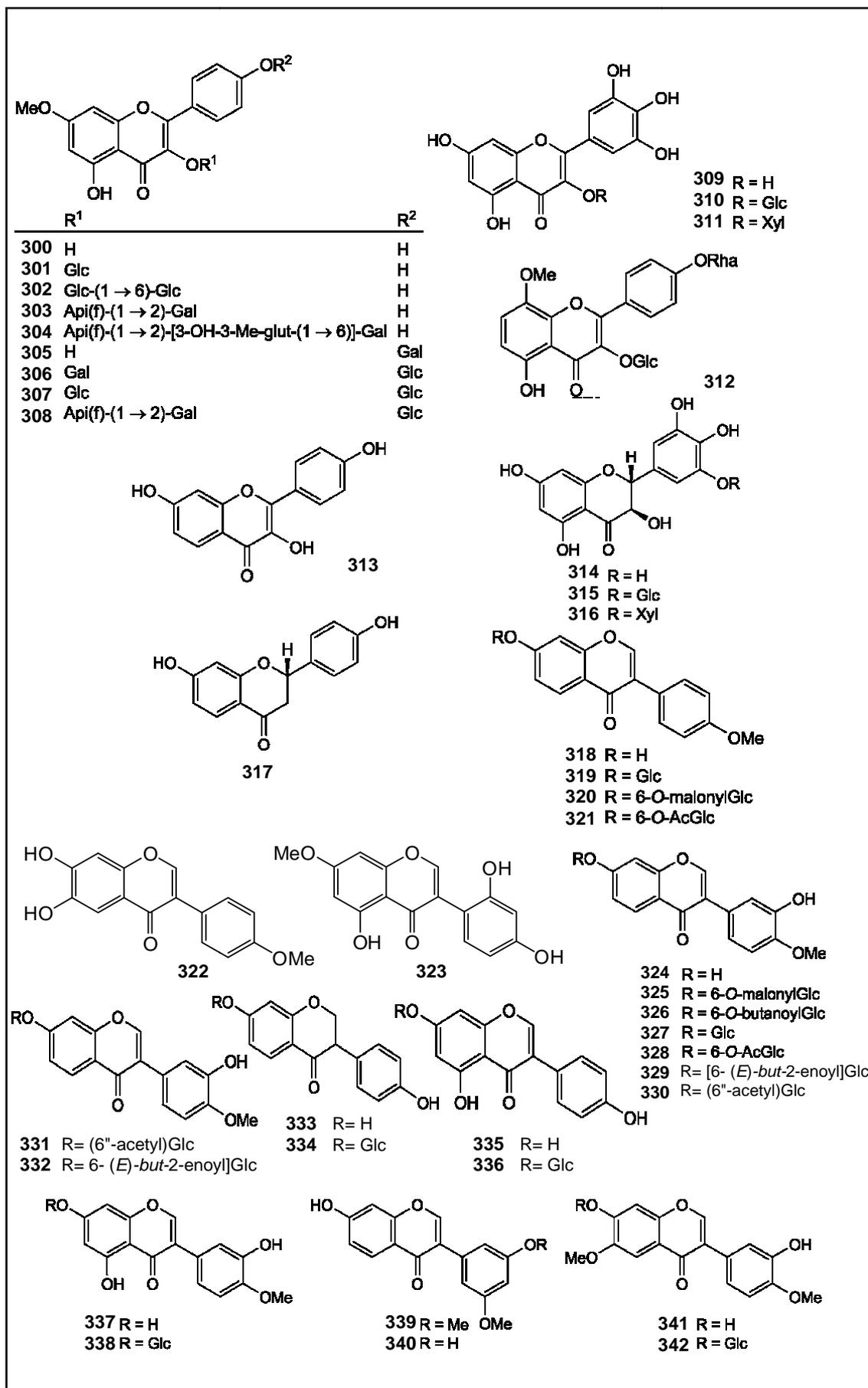
- | | R ¹ | R ² |
|-----|----------------|----------------|
| 258 | Glc | H |
| 259 | H | Glc |



- | | R ¹ | R ² |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 260 | H | H |
| 261 | Gal | H |
| 262 | Glc | H |
| 263 | Glc | Glc |
| 264 | Rha-(1 → 6)-Gal | H |
| 265 | Rha-(1 → 6)-Glc | H |
| 266 | Glc-(1 → 6)-Glc | H |
| 267 | (3,4-O-di-Rha)Gal | H |
| 268 | Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)-Gal | H |
| 269 | [Api(f)-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 270 | [Rha-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 271 | [3-O-(<i>E</i>)- <i>p</i> -coumaroyl][Rha-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 272 | [3-O-(<i>E</i>)-feruloyl][Rha-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 273 | [4-O-(<i>E</i>)- <i>p</i> -coumaroyl][Rha-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 274 | [4-O-(<i>E</i>)-feruloyl][Rha-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 275 | Api(f)-(1 → 2)-Rha-(1 → 6)-Glc | H |
| 276 | Rha-(1 → 4)-Rha-(1 → 6)Glc | H |
| 277 | Rha-(1 → 2)-Rha-(1 → 6)Gal | H |
| 278 | Me | Me |



- | | R ¹ | R ² |
|-----|----------------------------------------------|----------------|
| 279 | H | Glc |
| 280 | H | H |
| 281 | Glc | H |
| 282 | Api(f)-(1 → 2)-[Rha-(1 → 6)]-Gal | H |
| 283 | Rha-(1 → 6)-Gal | H |
| 284 | Rha-(1 → 6)-Glc | H |
| 285 | Api(f)-(1 → 3)-Glc | H |
| 286 | Rha-(1 → 3)-Glc | H |
| 287 | H | H |
| 288 | Glc | H |
| 289 | Rha-(1 → 6)-Glc | H |
| 290 | Rha-(1 → 6)-Gal | H |
| 291 | [Api(f)-(1 → 2)][Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)]Gal | H |
| 292 | Xyl-(1 → 3)-Rha-(1 → 6)-Gal | H |
| 293 | Xyl-(1 → 2)-Xyl | H |
| 294 | Gal | H |
| 295 | Glc | H |
| 296 | Xyl-(1 → 2)-Glc | H |
| 297 | H | Glc |
| 298 | Api(f)-(1 → 2)-[3-OH-3-Me-glut-(1 → 6)]-Gal | Me |
| 299 | H | Me |



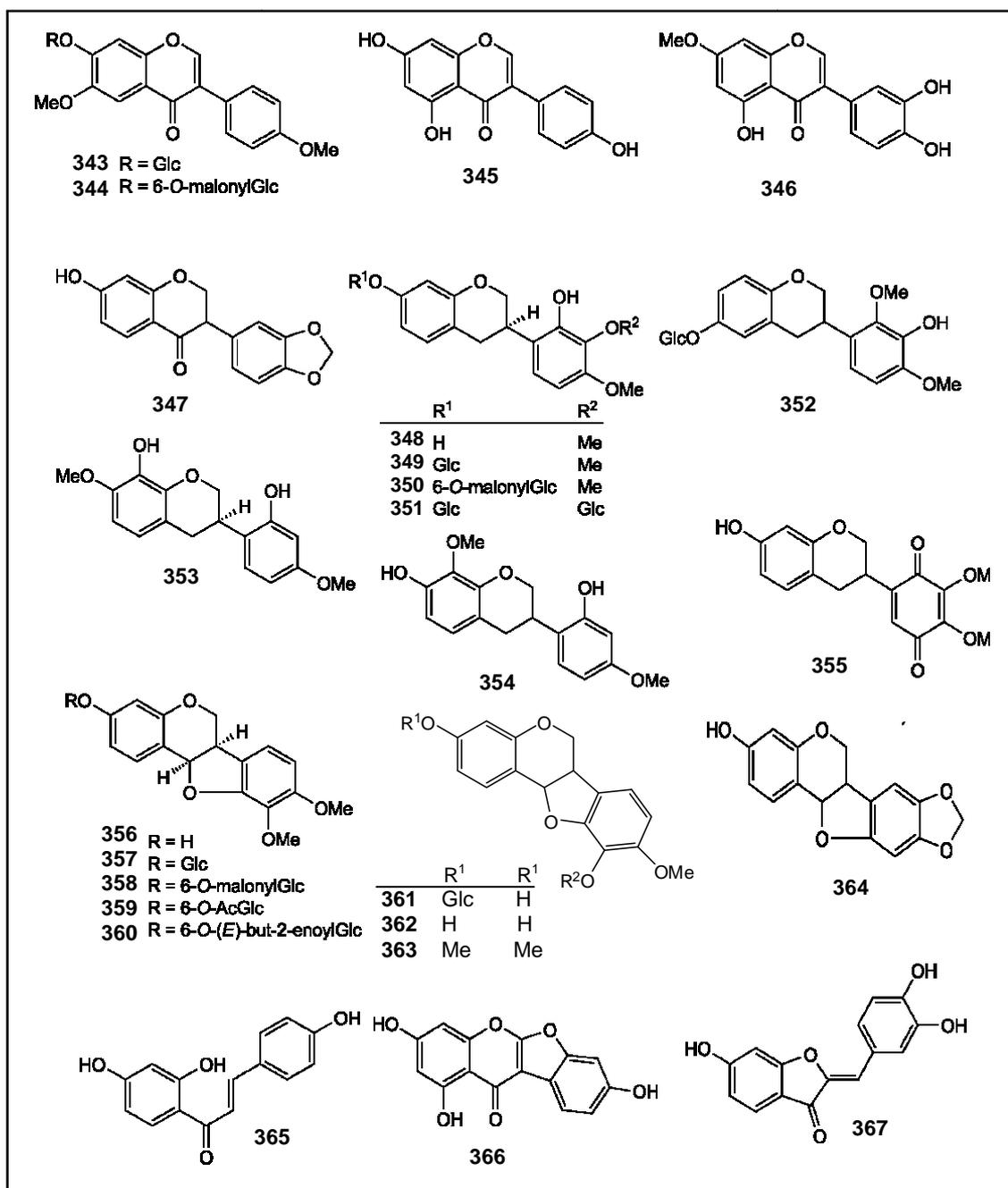


Figure 6 : Structure des flavonoïdes isolés du genre *Astragalus*

Les travaux présentés ici ont consisté à l'isolement et l'identification de 6 composés à partir des gousses de l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) M. et d'évaluer l'activité antioxydante par plusieurs méthodes, l'activité antibactérienne et l'activité immunomodulatrice ont ainsi été établies.

I.3. L'espèce *Astragalus armatus ssp.numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

I.3.1. Place dans la systématique (Classification APG III (2009))

Règne :	Plante (<i>plantae</i>)
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Dialypétales
Ordre :	Fabales
Famille :	Fabacées
Sous famille :	Papilionacées
Tribu :	Galegée
Genre :	<i>Astragalus</i>
Espèce :	<i>Armatus</i>
Sous espèce :	<i>Astragalus armatus ssp.numidicus</i> (Coss. et Dur.) M.

I.3.2. Description botanique

D'après Quezel et Santa [1], *Astragalus armatus* Willd. est une plante à gousses demeurant enfermées dans le calice fortement accrescent, vésiculeux papiracé, glabre réticulé. Arbuste de 20-50 cm à tiges plus au moins diffuses à rachis de feuilles s'indurant et se transformant en épines très fortes, à 3-8 paires de folioles très vite caduques. Fleurs d'un blanc rosé. Son nom vernaculaire est le suivant « Gdad », « El Guendoul » et « Chouk edderban » (**figure 7**).



Figure 7: Photos d'*Astragalus armatus* Willd [251]

I. 3.3. Répartition géographique

L'espèce *Astragalus armatus* grandissant en Afrique du Nord. C'est une espèce endémique, elle se trouve en Algérie, en Maroc et en Tunisie.

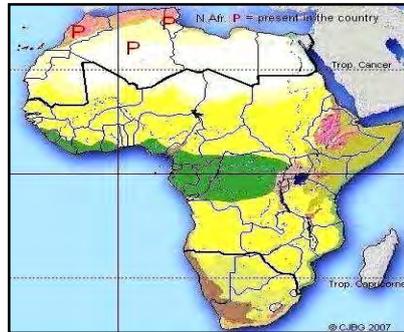


Figure 8 : Répartition géographique de l'espèce *Astragalus armatus* Willd [252].

I.3.4. Utilisation en médecine traditionnelle

A Ghardaïa, l'écorce et les graines d'*Astragalus armatus* sont fréquemment utilisés pour le traitement de différents types de blessures et des problèmes d'estomac, la douleur, la fièvre et la constipation [253].

Les parties aériennes fraîches broyées d'*Astragalus armatus* sont utilisées pour traiter les morsures de serpents et de scorpions dans le sud du Maroc (application locale) [31].

I.3.5. Travaux antérieurs sur l'espèce *Astragalus armatus*

Des travaux ont déjà menés au sein de notre laboratoire et ont permis de séparer à partir des parties aériennes d'*Astragalus armatus* Willd., un nouveau flavonol triglycosylé avec sept flavonols connus ont été isolés [254].

De plus *A.armatus* a fait l'objet d'une étude phytochimique conduisant à quatre saponosides ont été isolés dont deux sont nouveaux isolés à partir des racines [122].

CHAPITRE II:

Activités biologiques

II.1. Activités biologiques du genre *Astragalus*

Dans les dernières années, de grands efforts ont été faits pour investiguer les activités biologiques des plantes du genre *Astragalus*. Nous récapitulons brièvement le progrès de mise à jour relatif à cet aspect (**tableau 3**).

Tableau 3: Quelques activités biologiques d'extraits ou composés isolés du genre *Astragalus*

Activité biologique	Extraits ou composés isolés du genre <i>Astragalus</i>	Réf
Hépatoprotective	Flavonoïdes Totaux d' <i>A.membranaceus</i> (FTA)	[255]
	Astragaloside IV (17)	[256]
Antibactérienne	Extrait hexanoïque d' <i>A.verrucosus</i>	[257]
	Extrait CHCl ₃ d' <i>A.danicus</i>	[79]
	Soyasaponine I (208)	[193]
Antifongique	Extraits AcOEt, BuOH et EtOH d' <i>A.verrucosus</i> , astraverrucine II (20)	[257]
	Apigénin 7- <i>O</i> - β -D-glucosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside (250)	[193]
Anti-HIV	Calycosin 7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (327)	[258]
Anti-HBV	Astragaloside IV (17)	[259]
Cytotoxique	Injection d' <i>Astragalus membranaceus</i> (IAM)	[260]
	Extraits volatils d' <i>A.hamosus</i>	[261]
	Apigénine (244) et quercétine (287)	[262]
	Astragaloside I (14), Astragaloside III (16)	[263]
Anticancéreuse	Flavonoïdes d' <i>A. complanatus</i> (FAC)	[264]
	Formononetine (318)	[265]
	Rhamnocitrin 4'- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside (305)	[266]
	Saponines totaux d' <i>Astragalus membranaceus</i> (STA)	[267]
Antioxydante	Astragali Radix	[268]
	Flavonoïdes totaux d' <i>A.mongholicus</i>	[269]
	Daidzeine (333) et Daidzine (334)	[270]
	Astragaloside IV(17)	[271]
Antihypertensive	Les racines <i>A.membranaceus</i> var. <i>mongholicus</i> (Bge.) Hsiao	[272]
	Flavonoïdes d' <i>A. complanatus</i> (FAC)	[273]
	Astragaloside IV (17)	[274]
Anti-ulcéreuse	Les racines <i>A.membranaceus</i> var. <i>mongholicus</i> (Bge.) Hsiao	[275]
Immunomodulatrice	Extrait aqueux d' Astragali Radix (EAR)	[276]
	Extrait ethanolique d' Astragali Radix	[277]
	Astraverrucine IV (22) et cycloaraloside D (28) isolés d' <i>A. Peregrinus</i>	[102]
	Astragaloside VII (18), Macrophyllsaponine B (139)	[278]
Anti-Inflammatoire	Extrait aqueux d' Astragali Radix	[279]
	Calycosin-7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (327)	[280]
Leishmanicide et trypanocide	Astragaloside I (14), Astragaloside IV(17) et Acetylastragaloside I (50)	[93]

	Astragaloside II (15), oleifolioside A (87), oleifoliosides B (88) et cyclocanthoside E (92)	[97]
Neuroprotective	Extrait aqueux d'Astragali Radix	[281]
	Astragaloside IV(17)	[282]
Rénalprotective	Extrait aqueux d'Astragali Radix	[283]
Antidiabetique	Formononetine(318), ononine (319), calycosine (324) et calycosin-7-O-β-D-glucopyranoside (327) isolés d'Astragali Radix	[284]
	Extrait aqueux d'Astragali Radix	[285]
	Astragaloside II (15), isoastragaloside I (51)	[286]
Gastroprotective	Astragaloside IV(17)	[287]
Cardioprotective	Astragaloside IV(17)	[288]
	Extrait aqueux d'Astragali Radix	[289]
	Formononetine (318)	[290]
Anti-asthme	Injection d' <i>Astragalus membranaceus</i> (IAM)	[291]
	Astragaloside IV (17)	[292]
Amélioration de l'activité hématopoïétique	Injection d' <i>Astragalus membranaceus</i> (IAM)	[293]

Dans notre étude nous avons évalué l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et l'activité immunomodulatrice des fractions chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique d'*Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. Pour cette raison nous donnons un aperçu bibliographique de ces activités.

II.2. Activité antioxydante

II.2.1 Introduction

Depuis le début du 20^{ème} siècle, les chimistes ont étudié les antioxydants, caractérisés par leur capacité à s'oxyder en d'autres molécules. Leur impact sur la santé n'a été étudiée par les biologistes qu'au début des années 60 grâce aux travaux effectués sur les vitamines et les flavonoïdes, suivis par les travaux sur l'acide ascorbique à la fin des années 70 [294]. L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies, cependant, par l'intermédiaire de ses dérivés peut aussi causer des dommages à l'organisme, ces effets ont été largement étudiés [295].

II.2.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres se définissent comme toute atome ou molécule, neutre ou ionisée, contenant un ou plusieurs électrons célibataires dans une orbitale externe. Ils sont caractérisés par une grande réactivité chimique et une courte durée de vie [290]. Leurs agressions sur l'organisme sont multipliées sous l'effet de l'exposition aux radiations ionisantes (exposition au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la

pollution, le contact avec certains pesticides ou solvants, la consommation du tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique d'un effort physique très intensif et la perte du poids importante [296-298]. On distingue les radicaux primaires, qui dérivent de l'oxygène par des réductions d'un électron, tels que : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical alkoxy (RO^{\cdot}) et le radical peroxy (ROO^{\cdot}), et les radicaux libres secondaires qui résultent des réactions des radicaux primaires sur des composés biochimiques de la cellule, parmi eux on cite : l'oxygène singulet (1O_2), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$) [299, 300].

II.2.3. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques [301], se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs [302].

L'importance des antioxydants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique parce qu'il peut produire au niveau de la mitochondrie des espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire [303].

II.2.4. Division des antioxydants

L'antioxydant joue un rôle dans la prolongation de la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations provoquées par oxydation.

II.2.4. 1. Antioxydants d'origine naturelle

Les antioxydants d'origine naturelle sont présents dans presque toutes les plantes et les micro-organismes. Les antioxydants naturels les plus importants sont la vitamine E (tocophérol), les caroténoïdes (β -carotène), la vitamine C (l'acide ascorbique), les polyphénols en particulier les flavonoïdes (**figure 9**).

II.2.4.1.a. Vitamine E (α -tocophérol)

La vitamine E est la plus importante des vitamines liposolubles connues. Elle est présente de manière quasi universelle au niveau des membranes cellulaires, un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres [304], elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et sur le vieillissement. Elle limite les effets nocifs du cholestérol et donc préviendrait de

l'artériosclérose [295]. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, olive pressé à froid et tournesol), les amandes, les graines, les œufs, le lait, les légumes à feuilles vertes [305].

II.2.4.1.b. Vitamine C

La vitamine C est un antioxydant très efficace, hydrosoluble, sensible à la chaleur, à l'oxygène et aux ultraviolets [306]. Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire [307]. Selon le pH, la vitamine C peut prendre une forme réduite ou oxydée. Le passage de l'une à l'autre se fait par l'intermédiaire d'un radical libre c'est le radical ascorbyle [308]. Il est capable de piéger directement l'anion superoxyde et l'oxygène singulet [302]. On trouve la vitamine C dans les légumes, les choux, les agrumes, le poivron, le kiwi et le persil. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E [305].

II.2.4.1.c. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments issus des microorganismes et des plantes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles [309]. Ils sont d'excellents piégeurs d'espèces radicalaires grâce à leur système conjugué de doubles liaisons [310]. Le β -carotène est un précurseur de la vitamine A qui est liposoluble, réagit directement avec le radical peroxyde (ROO^\bullet) [311]. On trouve le β -carotène dans les carottes, les légumes verts, la salade, l'abricot, les épinards, le melon, la papaye et autres fruits jaunes [305].

II.2.4. 1.d. Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques présentent d'une manière ubiquiste dans les végétaux, ils sont issus du métabolisme secondaire. Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques, un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs hydroxyles. Ils se divisent en plusieurs groupes : les coumarines, les chromones, les stiblènes, les lignanes, les tanins, les lignines et les flavonoïdes. Ces derniers constituent la plus importante catégorie de polyphénols, ils sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Les flavonoïdes se comportent principalement comme des antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydes. Cependant ils peuvent aussi désactiver les autres espèces réactives de l'oxygène (ERO) (l'anion superoxyde (O_2^\bullet), le radical hydroxyl ($^\bullet\text{OH}$), oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), ils jouent un rôle dans l'inhibition de

la lipoxigénase et chélation des métaux [312]. Les flavonoïdes sont très abondants dans les légumes, les feuilles des légumes (salades, choux, épinards...), ainsi que dans les téguments externes des fruits. De nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes [313]. Plusieurs études *in vitro* ont montré que la quercétine est un excellent antioxydant, de tous les flavonoïdes, c'est le plus puissant capteur des ERO. Kampkotter et ses collaborateurs ont montré que le traitement par la quercétine des vers *Caenorhabditis elegans* accroît leurs résistances au stress oxydant et allonge leur durée de vie de 15 % [314].

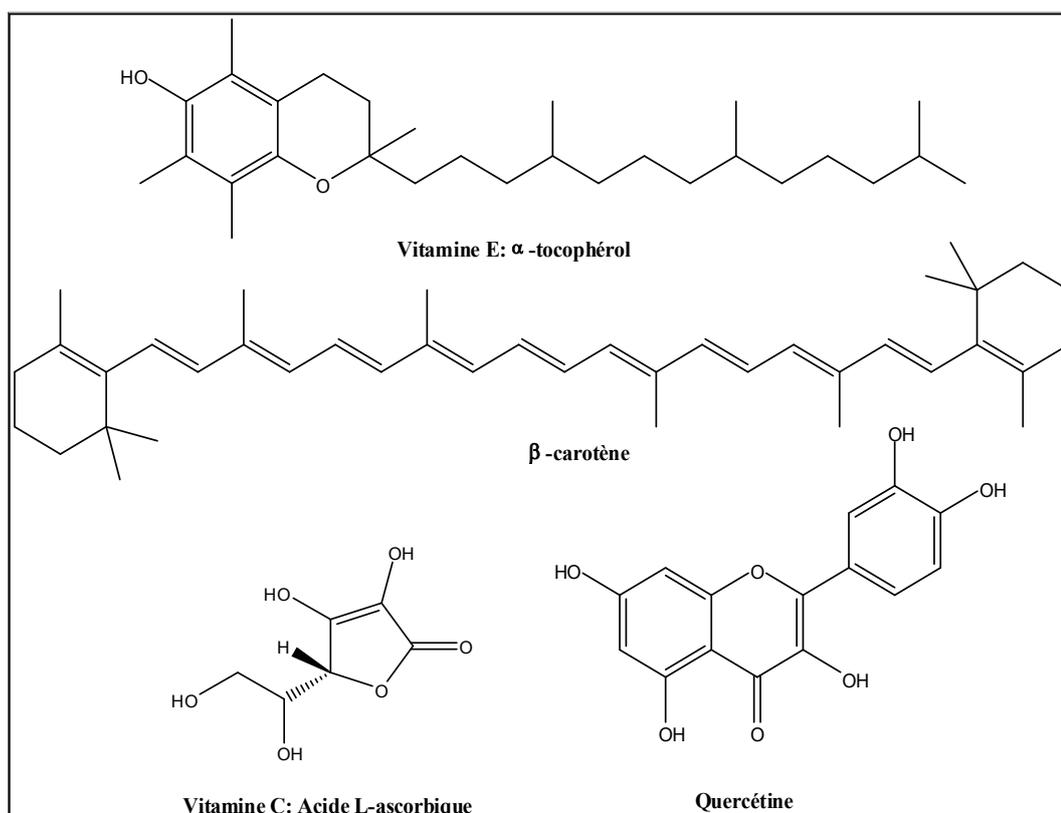


Figure 9 : Antioxydants naturels

II.2.4. 2. Antioxydants de synthèse

Il existe plusieurs antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels [315]. Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), et la gallate propylée (PG) (**figure 10**) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils sont susceptibles de manifester des effets secondaires et même toxiques [316].

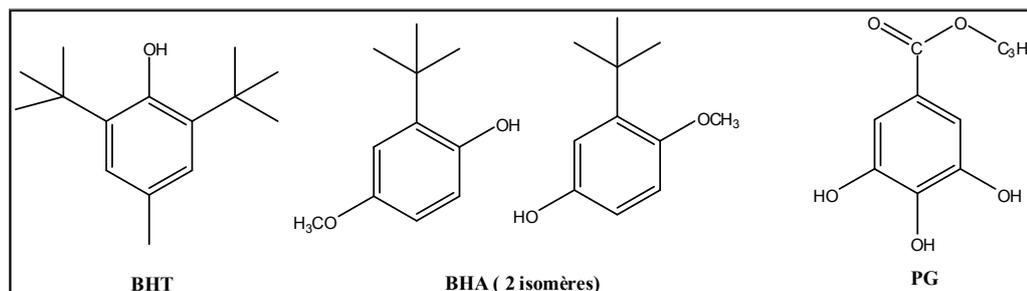


Figure 10 : Antioxydants synthétiques

II.2.5. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Il existe une multitude de tests pour la mesure de l'activité antioxydante. Elles peuvent être classées en deux groupes selon leurs mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron [317, 318]. Les tests les plus utilisés sont :

- ✓ le test de l'acide 2,2-Azino-Bis-3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulfonique (**ABTS**)
- ✓ le test du 1,1-diphényl 2-picrylhydrazyl (**DPPH**).
- ✓ le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (**FRAP**) en anglais Ferric Reducing Antioxidant Power.
- ✓ le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cupriques (**CUPRAC**) en anglais CUPric Reducing Antioxidant Capacity.

II.2.5.1. Test ABTS

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical-cation $ABTS^{•+}$, l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**figure 11**), Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des mélanges complexes des fluides biologiques ou bien des composés purs [301]. Ici, le radical stable est l' $ABTS^{•+}$ caractérisé par son absorption à 734 nm. La première étape de ce test consiste à former le radical $ABTS^{•+}$ selon des méthodes diverses à partir de l'ABTS et en utilisant différents réactifs comme le dioxyde de manganèse (MnO_2) [319], le peroxyde d'oxygène (H_2O_2) [320], ou le persulfate de potassium [321]. L'évaluation par spectrophotométrie de l'activité de piéger l' $ABTS^{•+}$ a été déterminé selon la méthode de Re et ses co-auteurs [318], avec quelques modifications [322]. Pour cela, il suffit de mettre en présence de l'ABTS avec du persulfate de potassium (rapport 1: 0,5) pour donner une solution colorée en vert-bleu. Le test consiste ensuite à mesurer la diminution de l'absorbance à 734 nm au cours du temps afin d'estimer le pouvoir antioxydant total du composé testé [323].

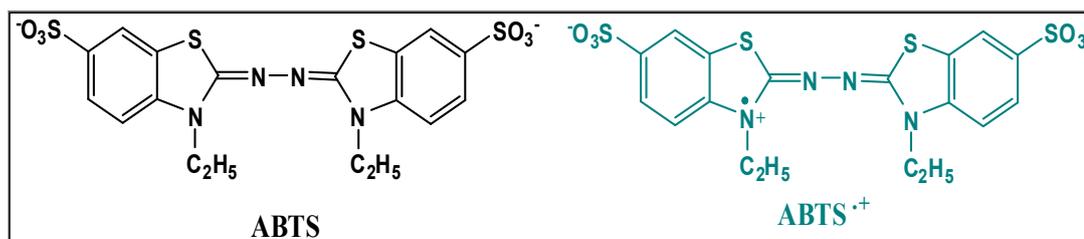


Figure 11 : Structure de l'acide 2,2'-Azinobis-(3-éthylBenzoThiazoline-6-Sulfonique):
forme réduite (ABTS) et forme radicale cation (ABTS^{•+})

II.2.5.2. Test DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (**figure 12**) est un radical libre stable, possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle. En sa forme radicalaire, le DPPH absorbe à 517 nm, mais lorsqu'il est réduit par un antioxydant ou une espèce radicale, son absorbance diminue. L'activité de piéger les radicaux libres a été déterminée par l'essai de DPPH [324] avec quelques modifications. [322].

Cependant, ce test peut poser des difficultés d'interprétation lorsque les composés testés possèdent une bande d'absorption dans le visible vers 515 nm, interférant avec celle du DPPH[•] [325]. Le test avec l'ABTS^{•+} est alors recommandé car on peut interpréter les résultats sur la bande à 734 nm, n'interférant plus avec celle du composé testé.

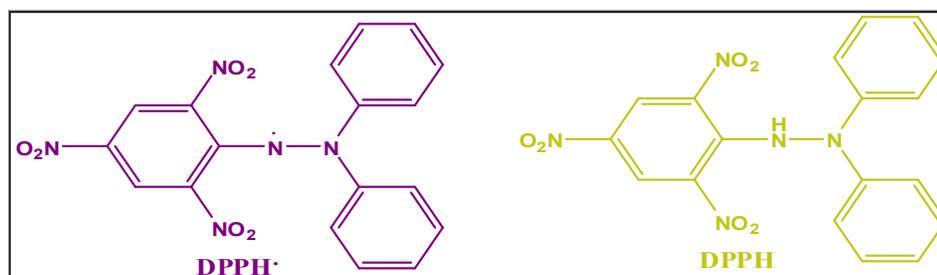


Figure 12: Structure 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl et 1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazine

II.2.5.3. Test FRAP

Le principe de ce test repose sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par le composé testé. Dans un milieu acide à 37 °C, le complexe incolore 2, 4, 6-tripyridyltriazine ferrique (TPTZ- Fe^{3+}) est ajouté à l'échantillon. Les antioxydants présents réduisent le complexe en sa forme (TPTZ- Fe^{2+}) (**figure 13**) de couleur bleu et son absorbance est lue à 562 nm toutes les 15 s durant une période n'excédant pas 10 minutes

qui forme un complexe avec le fer [326]. Ce test est rapide et donne une productibilité pour des solutions biologiques ou pour des solutions pures d'antioxydants.

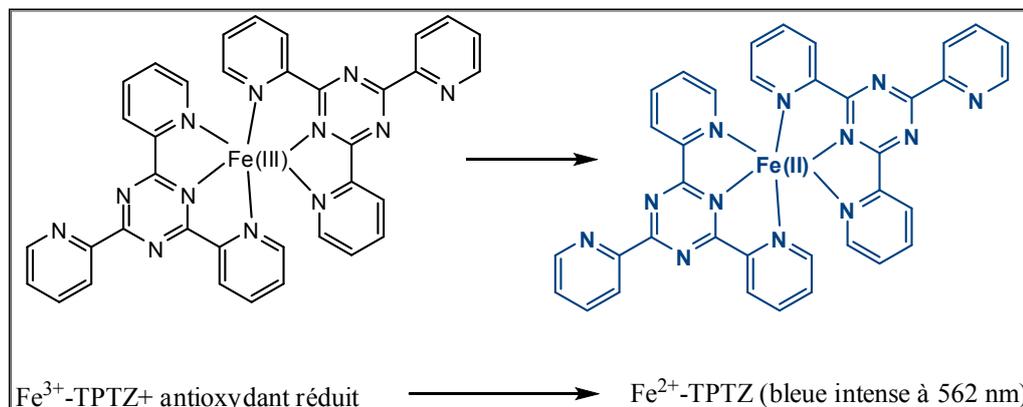


Figure 13: Réaction du test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

II.2.5.4. Test CUPRAC

Cette méthode développée dans les laboratoires de chimie analytique de l'Université d'Istanbul, le réactif cuivre (II)-neocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline) (**figure 14**) peut oxyder des composés antioxydants qui sont solubles dans l'eau ou dans l'huile, étant lui-même réduit en complexe chélate de cuivre coloré (I)-neocuproïne. Cette méthode est similaire à la méthode FRAP [326]. La méthode du CUPRAC mesure le pouvoir antioxydant à un pH à peu près physiologique (environ pH=7), et à 450 nm de sorte qu'il simule mieux l'action physiologique de ces antioxydants. Le CUPRAC chromophore monovalent chargé ($\text{Cu}(\text{Nc})^{2+}$) est soluble dans les deux solvants aqueux et organiques, ce qui permet la détermination simultanée des antioxydants hydrophiles et lipophiles [327].

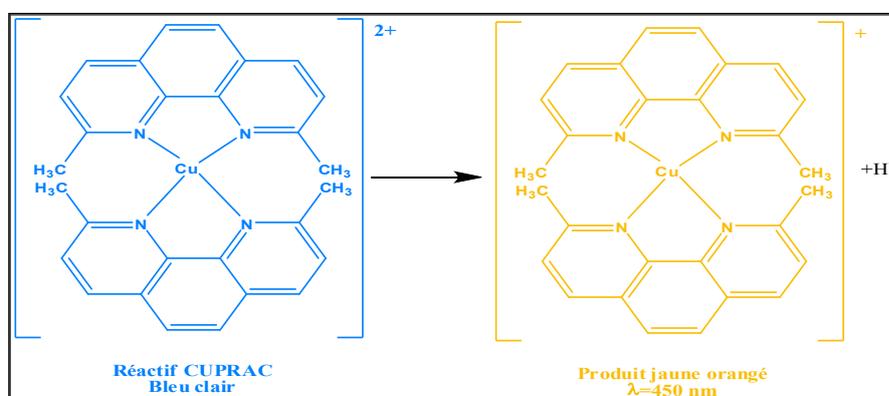


Figure 14 : Réaction de CUPRAC et chromophore: cation chélate bis (néocuproïne) cuivre (I). (Les protons libérés dans la réaction sont neutralisés par le tampon NH_4Ac).

II.3. Activité antibactérienne

II.3.1. Introduction

Dès les temps les plus reculés, l'homme a utilisé des micro-organismes pour faire préparer des boissons, des aliments, bien que leur existence n'a été reconnue et étudiée qu'au XIX^e siècle.

Au dernier siècle, les micro-organismes, à leur découverte, se sont révélés à l'homme comme ses pires ennemis, menaçant sa santé, son alimentation, ses biens. Avec le développement scientifique, il paraît que les micro-organismes peuvent aider l'homme en agriculture, dans l'environnement et dans l'industrie. Des réalisations telles que la biosynthèse des vaccins antiviraux, ou de substances à visé thérapeutique (les antibiotiques,...) révolutionnent certains traitements en médecine.

On définit les antibiotiques comme des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes ciblés. Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les micro-organismes Ces substances sont classées en diverses familles selon leur structure chimique et leur mode d'action [328]. D'autre part, il est nécessaire de souligner l'ampleur des travaux d'hémisynthèse réalisés à partir de certains antibiotiques naturels. Ces derniers sont isolés à partir des plantes. Parmi ces plantes, l'Astragale a fait l'objet de plusieurs travaux qui sont consacrés à l'étude des activités biologiques d'*Astragalus*.

II.3.2. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou d'un composé présent au sein d'un végétal qui inhibe le développement d'une bactérie ou la tue à très faible concentration. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien [329].

II.3.3. Test de sensibilité aux antibiotiques : L'antibiogramme

La réalisation d'un antibiogramme consiste à la recherche de la sensibilité d'une bactérie à un certain nombre d'antibiotiques. Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé,ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries à nos extraits est

appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers mais imprégnés d'extrait étudié. La technique utilisée dans notre travail est la technique NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) [330, 331].

II.3.4. Définition de la CMI (concentration minimale inhibitrice)

La concentration minimale inhibitrice d'un composé vis-à-vis d'une souche bactérienne est considérée comme la plus faible concentration de ce composé qui empêche tout développement d'une bactérie donnée [329]. Ces CMI correspondent à des valeurs proches du $\mu\text{g/mL}$: plus la CMI est faible, plus l'antibactérien est actif. Il convient de noter que lorsqu'une bactérie est prouvée sensible à un antibiotique, ce dernier est susceptible d'être utilisé comme un traitement à ce type d'infection [329].

II.3.5. Choix des bactéries

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des trois fractions d'*A. armatus*, nous avons utilisé neuf souches bactériennes dont trois sont des souches de références (**tableau 4**).

Tableau 4 : Pouvoir pathogène des souches microbiennes utilisées [332-334]

Souches bactériennes	Familles	Pouvoir pathogène
<i>Esherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Esherichia coli</i> (SH)	<i>Enterobacteriacée</i>	Différentes formes de diarrhées, dysenterie, rôle des enterotoxines, de l'endotoxine, des adhésines, certains de ces facteurs sont également impliqués dans des infections des tissus profonds.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SH)	<i>Pseudomonacée</i>	Infection pulmonaire peut être primitive ou secondaire à une septicémie.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 <i>Staphylococcus aureus</i> (SH)	<i>Micrococcacée</i>	Staphylococcie cutanées, sous-cutanées et muqueuses, osseuses, pulmonaire, toxiinfection alimentaire, entérocolites aiguës.
<i>Enterobacter aerogenes</i> (SH)	<i>Enterobacteriacée</i>	Cause des infections oculaires succédant à des traumatismes accidentels ou chirurgicaux. Responsable de quelques cas de toxi-infections alimentaires.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (SH)	<i>Enterobacteriacée</i>	Infections urinaires, bronchopneumopathies, infections intra-abdominales, infections de sites opératoires, mal perforant plantaire, infections néo-natales.
<i>Morganella morganii</i> (SH)	<i>Enterobacteriacée</i>	Cause des infections urinaires, extra-intestinales, materno-foetales.

SH : souche hospitalière

II.4. Activité immunomodulatrice

II.4.1. Généralités

Au 21^{ème} siècle, le monde est confronté aux problèmes de la croissance de la population, augmentation de l'incidence des maladies [335]. En raison du développement de la résistance aux antibiotiques par les bactéries [336] et la résistance aux antiviraux par les virus [337], les recherches maintenant ont ciblés à l'immunomodulation. Le terme immunomodulation est généralement utilisé pour décrire la manipulation pharmacologique de l'état d'activité du système immunitaire. Les immunomodulateurs font soit une augmentation ou une diminution de l'amplitude de la réponse immunitaire. L'augmentation de la réponse immunitaire est connue comme immunostimulation/immunopotentialisation tandis que la suppression de la réponse immunitaire est nommée l'immunosuppression [338]. D'un point de vue thérapeutique, l'immunomodulation se réfère à un processus et un plan d'action dans lequel une réponse immunitaire est altérée à un niveau souhaité [339].

Les drogues végétales sont connues par des propriétés immunomodulatrices et généralement agissent en stimulant à la fois l'immunité spécifique et l'immunité non spécifique [340]. Beaucoup de plantes utilisées en médecine traditionnelle sont signalés à avoir des activités immunomodulateurs. Certains d'entre eux stimuler à la fois l'immunité humorale et à la médiation cellulaire tandis que d'autres activent seulement les composants cellulaires du système immunitaire, à savoir la fonction phagocytaire sans affecter l'immunité humorale ou à médiation cellulaire [341].

L'Astragale est l'une des importantes plantes adaptogènes figurant dans la célèbre Chinese materia medica. Dans les années 1980, l'*Astragalus* est devenu extrêmement populaire aux États-Unis à travers les médias comme un stimulant du système immunitaire. Aujourd'hui, la plupart des recherches pharmacologiques portant sur l'*Astragalus* sont concentrées sur ses polysaccharides immunostimulants et sur d'autres de ses ingrédients actifs utiles pour traiter des maladies liées à des déficiences immunitaires tel que les flavonoïdes et les saponines.

L'*Astragalus* stimule le système immunitaire de différentes façons. Il augmente le nombre de cellules souches dans la moelle osseuse et le tissu lymphatique, et favorise leur développement en cellules immunitaires actives. Il semble aider à faire passer les cellules immunitaires d'un stade « de repos » à une très grande activité. Il aide également

l'organisme à produire de l'immunoglobuline et stimule les macrophages. L'*Astragalus* peut également aider à activer les cellules naturelles tueuses et les lymphocytes T [342].

II.4.2. Organes du système immunitaire

Le système immunitaire est composé de nombreux types de cellules qui protègent collectivement le corps, de parasites, de champignons, des infections virales et bactériennes et de la croissance des cellules tumorales. Un grand nombre de ces types de cellules ont des fonctions spécialisées. Les cellules du système immunitaire peuvent englober des bactéries, des parasites, tuer les cellules tumorales, ou tuer les cellules virales infectées. Le système immunitaire se compose de moelle osseuse, Thymus, la rate, et les ganglions lymphatiques.

II.4.3. Immunomodulateurs

Moduler et potentialiser les armes de système immunitaire et de les maintenir dans un état très prêt à toute menace qu'elle peut rencontrer. Avec cet effet d'équilibrage, toutes les réponses immunitaires subséquentes ont été améliorées. L'immunomodulation est le processus de modification d'une réponse immunitaire d'une manière positive ou négative par l'administration d'un médicament ou composé. De nombreuses protéines, acides aminés, et des composés naturels ont montré une importante capacité de réguler les réponses immunitaires, y compris l'interféron- γ (IFN- γ), les stéroïdes, DMG (diméthylglycine). Ce sont des substances biologiques ou synthétiques, qui peuvent stimuler, supprimer ou moduler l'une des caractéristiques du système immunitaire, y compris les deux bras d'adaptation et innés de la réponse immunitaire. Cliniquement les immunomodulateurs peuvent être classés en suivantes catégories [343]:

II.4.3.1. Immunoadjuvants

Ces agents sont utilisés pour améliorer l'efficacité des vaccins et donc, pourraient être considérés comme des stimulants immunitaires spécifiques 31 exemple à cet égard est de l'adjuvant de Freud. Les immunoadjuvants peuvent tenir la promesse d'être les véritables modulateurs de la réponse immunitaire. Il a été proposé de les exploiter pour effectuer une sélection entre cellulaire et humorale, Th1 (cellules auxiliaires T1) et Th2 (cellules auxiliaires T2) immunoprotecteurs et immunodestructeurs, et reagenic (IgE) par rapport à l'immunoglobuline G (IgG) type de la réponse immunitaire, ce qui pose comme un véritable défi pour les concepteurs de vaccins [344].

II.4.3.2. Immunostimulants

Ces agents sont intrinsèquement non-spécifique dans la nature comme ils ont envisagé l'amélioration de la résistance du corps contre l'infection. Ils peuvent agir par la réponse immunitaire innée et par la réponse immunitaire adaptative. Chez les individus sains les immunostimulants devrait servir comme des agents prophylactique et promoteurs c.à.d comme des immunopotentiators en améliorant le niveau de base de la réponse immunitaire, et chez l'individu avec l'affaiblissement de la réponse immunitaire comme des agents immunothérapeutique [345-347].

II.4.3.3. Immunosuppresseurs

Ce sont un groupe structurellement et fonctionnellement hétérogène de médicaments, qui sont souvent administrés de façon concomitante en régime combiné pour traiter différents types de rejet de greffe d'organe et les maladies autoimmunes [347].

II.4.4. Facteurs immunomodulateurs

Les facteurs immunomodulateurs ceux qui peuvent réguler le système immunitaire sont nombreux tel que les polysaccharides, les polyphénols, les terpènes, les saponines, les acides gras, les alcaloïdes, les quinones, les phenyl propanoïdes et les huiles essentielles [348].

II.4.5. Méthodes pour tester les facteurs immunologiques

Le processus habituel pour le screening est d'extraire un seul ingrédient ou simple fraction distillée à partir de médicaments à base de plantes, de déterminer sa bioactivité par les moyens pharmacologiques classiques. Le modèle de l'animal entier est le modèle pharmacologique le plus classique de screening, qui est très important à l'aspect de l'évaluation du médicament car elle peut apparemment répondre à l'efficacité, les effets secondaires et la toxicité des médicaments dans son ensemble. Bien que cette méthode est coûteuse et son efficacité est faible, à l'heure actuelle il est encore un moyen primaire à la découverte et l'évaluation des médicaments.

Plusieurs méthodes *in vitro* et *in vivo* de criblage pharmacologique de plantes médicinales ayant une activité immunomodulatrice ont été citées, parmi eux:

Méthodes *in vitro*:

- L'inhibition de la libération d'histamine par les mastocytes [349].
- Test de plaque de formation de cellules (PFC) [350].
- Mitogène induite par la prolifération des lymphocytes [351].

Méthodes *in vivo*:

- La méthode de clairance de carbone [352].
- La réaction d'hypersensibilité [353].
- Essai d'hypersensibilité de type retardé (DTH) [354].
- Titre d'anticorps hémagglutination (HA) [355].
- Test d'adhésion des neutrophiles [356].

SOUS-PARTIE 2:
MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE I:
Matériel végétal et
purification

I.1. Matériel végétal

Astragalus armatus ssp. numidicus (Coss. et Dur.) Maire. a été récolté en Mai 2009 par M. Kamel Kabouche de la région de Bekira, Constantine (Nord-Est Algérien). L'identification botanique de cette espèce a été faite par le Professeur Gérard De Bélair (Université d'Annaba). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les gousses ont été pulvérisées et pesées (**500 g**). Un échantillon a été déposé au laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) (LOST ZKAK Asar/05/07).

I.2. Extraction

Une masse de **500 g** des gousses séchées et stockées puis broyées a été macérée à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (EtOH/H₂O ; 80 : 20 ; v/v) pendant 24 heures. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement de solvant. Après filtration, concentration à une température n'excédant pas 39°C, de l'eau distillée est additionné à l'extrait en raison de 400 mL par kg de matière sèche. Après repos d'une nuit, la solution est filtrée. La phase aqueuse subit une extraction de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol, le protocole d'extraction est schématisé dans la **figure 15**.

Les phases organiques récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées. Les rendements d'extraction sont donnés dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Masses et rendements des fractions obtenues

	Fraction	Masse (g)	Rendement (%)
500g	Chloroforme	2.19	0.43
	Acétate d'éthyle	2.0	0.4
	<i>n</i> -butanol	35	7

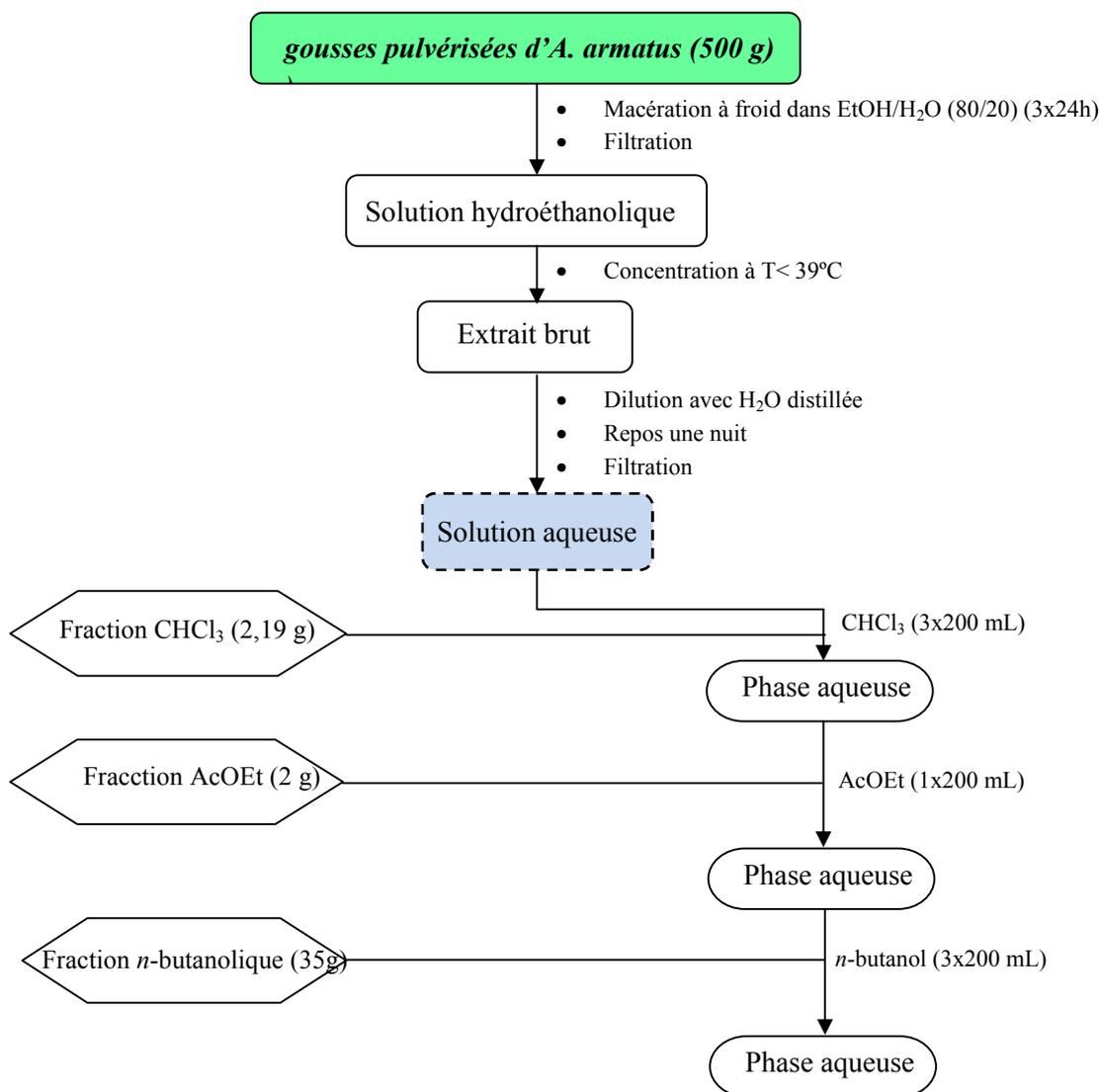


Figure 15 : Protocole d'extraction de l'espèce *Astragalus armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

I.3. Purification

Les deux fractions (fraction AcOEt et fraction *n*-butanol) ont subi une CCM gel de silice (60 F₂₅₄ sur feuilles d'aluminium) afin d'avoir une idée sur le nombre de produit à séparer et donc pouvoir choisir la méthode à utiliser. Pour cela, une partie de chaque fraction a été solubilisée dans le méthanol et déposée sur plaques de CCM de gel de silice phase normale qui puis a été éluée dans des systèmes de solvants (CH₂Cl₂/MeOH, CHCl₃/MeOH, Hexane/ AcOEt) avec différentes compositions et révélée avec les vapeurs de l'ammoniaque pour permettre une lecture préliminaire du contenu des fractions à analyser.

Cette étape a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes détectés grâce à la couleur de leurs spots sous lumière UV à 365 nm.

Pour mieux constater la richesse de ces fractions en composés phénoliques, des cartes flavoniques à deux dimensions (2D) ont été réalisées sur polyamide et sur papier Whatman n° III (figure 16).

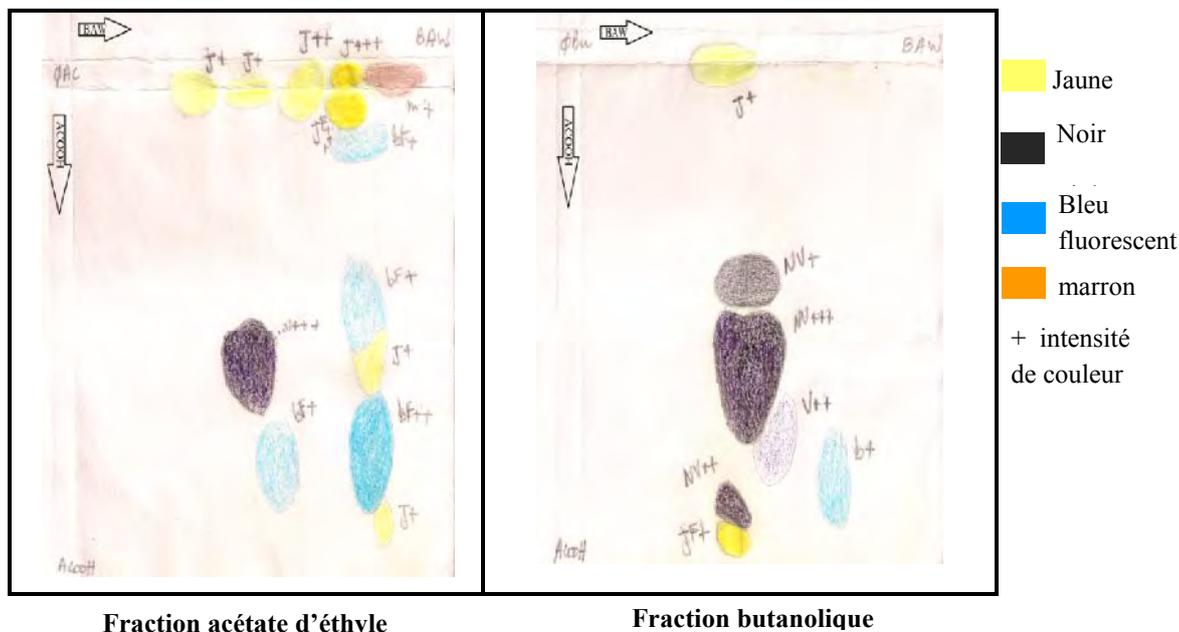


Figure 16 : Carte flavonique sur papier Whatman III des fractions acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *A.armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

Cette étude qualitative a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes dans les deux fractions (fluorescence jaune, noire violette et bleue sous lumière de Wood). On peut constater à vue d'œil que les deux fractions ont un profil chromatographique différent.

Une première comparaison de ces deux dernières sur le gel de polyamide montre qu'elles sont différentes. De même pour leur profil chromatographique de ces fractions sur papier Whatman III. Il montre une différence en nombre et en couleur des spots. Il apparait que la fraction butanolique est moins riche que celle de d'acétate d'éthyle.

Cette analyse préliminaire, nous a conduit à étudier séparément la fraction acétate d'éthyle vu la complexité de son profil chromatographique. Par ailleurs l'investigation de la fraction *n*-butanolique a été aisée, due à l'abondance de sa masse et du nombre limité de constituants qui la composent.

I.3.1. Fractionnement et purification de la fraction AcOEt de l'espèce *A. armatus*

1.8 g de la fraction AcOEt des gousses de l'espèce *A. armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. ont subi une VLC en phase normale avec l'éluant CHCl_3 - MeOH (100/0 à 0/100). Des fractions de 100 mL sont recueillies pour chaque mélange et analysées par chromatographie sur couche mince de gel de silice de phase normale. Le suivi de la VLC est effectué par CCM dans le système 85:15 (CHCl_3 : MeOH). Les fractions obtenues sont analysées par CCM dans le but de :

- réunir les fractions qui présentent le même profil chromatographique.
- déterminer un nouveau support chromatographique ainsi qu'un nouveau système du solvant susceptible de mieux séparer les composés.

Les CCM ont été examinées sous la lumière UV 254 et 365 et révélées à la VS puis chauffées à 100 °C. Huit fractions ont été récoltées (**figure 17**), après rassemblement des fractions de similitudes de leurs chromatogrammes, elles sont présentées dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : VLC sur gel de silice (phase normale) de la fraction AcOEt des gousses de l'espèce *A. armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

Eluant : CHCl_3 -MeOH	Fractions collectées	Volume (mL)	Masse (mg)
0 :100	<u>G₁</u>	300	40
5 :95	G ₂	300	100
10 :90	G ₃	300	140
20 :80	G ₄	300	220
30 :70	G ₅	300	100
40 :60	G ₆	600	120
80 :20	G ₇	800	80
100 :0	G ₈	1000	253

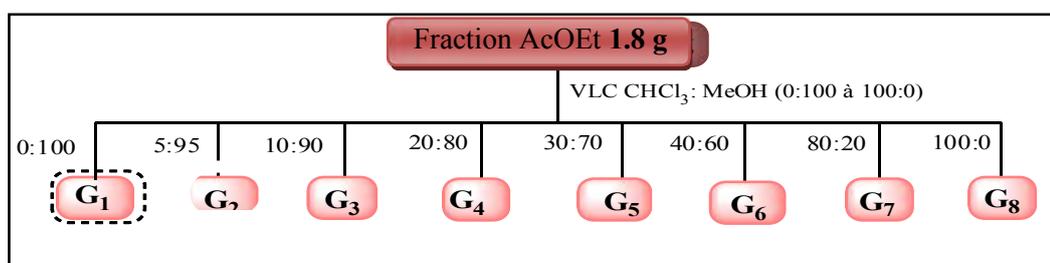


Figure 17 : Schéma de fractionnement de la fraction AcOEt d'*A. armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

La fraction G₁ (40 mg) a été chromatographiée sur une colonne de Sephadex LH-20 éluée par le méthanol, Des fractions de 10 mL ont été recueillies et réunies selon leur profil en CCM, 15 sous fractions ont été obtenues, la sous fraction G₁ (10-13) est récolté sous forme d'un produit pur désigné P₁ (5 mg).

I.3.2. Fractionnement et purification de la fraction *n*-butanolique d'*A. armatus*

10 g de la fraction *n*-butanolique des gousses de l'espèce *Astragalus armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. ont subi une VLC sur le gel de polyamide SC6 avec l'éluant (Toluène- MeOH) (100/0 à 0/100), 200 mL (x3) de solution sont recueillis pour chaque mélange et analysées par CCM. 16 fractions (**figure 18**), ont été récoltées après rassemblement des fractions possédant le même profil chromatographique (**tableau 7**).

Les fractions recueillies sont regroupées suivant la similitude de leur chromatogramme sur couches minces de gel de silice sur support aluminium, les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis révélées avec l'acide sulfurique et chauffées à 100 °C pendant 3 mn.

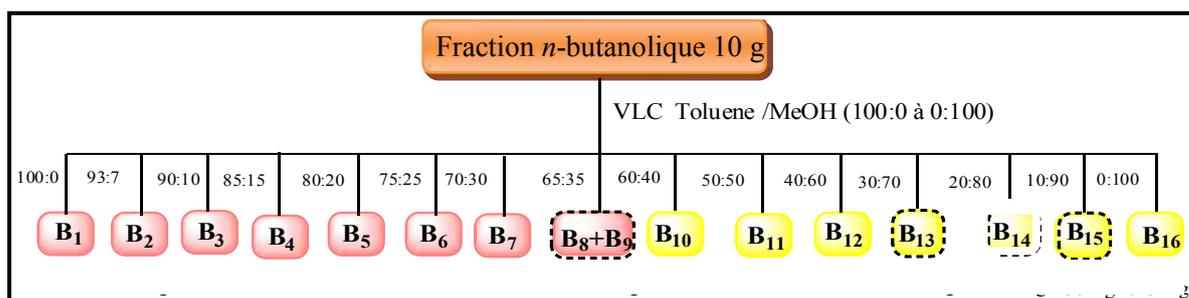


Figure 18: Schéma de fractionnement de la fraction *n*-butanolique d'*A. armatus*

Tableau 7 : Fractionnement la fraction *n*-butanolique d'*A. armatus* sur VLC de polyamide.

Eluant:Toluène-MeOH	Fractions collectées	Volume (mL)	Masse (mg)
100 :0	B ₁	600	40.7
93 :7	B ₂	600	340.2
90 :10	B ₃	600	58.4
85 :15	B ₄	600	110.3
80 :20	B ₅	600	90.1
75 :25	B ₆	600	86.5
70 :30	B ₇	600	165.2
65 :35	<u>B₈+ B₉</u>	1200	2000.0

60 :40	B ₁₀	600	320.5
50 :50	B ₁₁	600	240.9
40 :60	B ₁₂	600	200.8
30 :70	<u>B₁₃</u>	600	1190.6
20 :80	B ₁₄	600	70.1
10 :90	<u>B₁₅</u>	600	50.0
0 :100	B ₁₆	800	2015.7

I.3.2.1 Etude de la fraction B₈+B₉

La fraction B₈+B₉ (2000 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale éluée avec un gradient de CHCl₃/MeOH/ H₂O (80:20:0 à 40:60:10). Des fractions de 50 mL ont été recueillies et réunies selon leur profil en CCM. 16 sous fractions ont été obtenues (**tableau 8**).

Tableau 8: Fractionnement de la fraction B₈+B₉ sur colonne de gel de silice normale

Eluant:CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O	Fractions collectées	Volume (mL)	Masse (mg)
80 :20:0	S ₁	150	35.6
80 :20 :0	S ₂	100	65.7
80 :20 :0	S ₃	50	50.2
80 :20 :0	S ₄	50	40.9
80 :20 :0	S ₅	100	75.3
80 :20 :0	S ₆	250	120.6
80 :20 :0	S ₇	400	150.4
80 :20 :2	<u>S₈</u>	250	80.0
70 :30 :2	S ₉	350	133.5
70 :30 :2	S ₁₀	1050	90.9
65 :35 :5	S ₁₁	800	142.3
65 :35 :5	S ₁₂	250	130.7
60 :40 :7	S ₁₃	800	155.4
60 :40 :7	S ₁₄	250	122.9
40 :60 :10	S ₁₅	250	142.1
40 :60 :10	S ₁₆	800	600.9

I.3.2.2 Etude de la sous fraction S₈

La sous fraction S₈ contient trois taches (**figure 19**), d'après le chromatogramme dont l'une est majoritaire a fait l'objet d'une purification sur CCM de gel de silice phase normale dans le système de solvant CHCl₃/MeOH/H₂O (5.6 :1.2 :0.2). Après une élution répétée 5 fois dans ce système du solvant, on a obtenu 9 mg du produit **P₂** (**figure 20**)

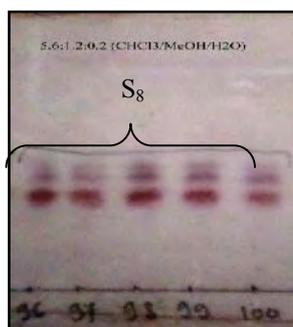


Figure 19 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale de la sous fraction S₈

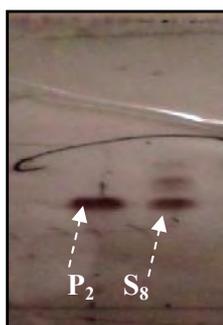


Figure 20 : Profil CCM sur gel de silice en phase normale du produit **P₂**

I.3.2.3 Etude de la fraction B₁₃

La fraction B₁₃ (1190 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale éluee par système isocratique AcOEt/MeOH/H₂O (10:1:0.5). Des fractions de 50 mL ont été recueillies et réunies selon leur profil en CCM. 15 sous fractions ont été obtenues (**tableau 9**). La sous fraction F₆ (72 mg) a été ensuite purifiée sur une colonne de gel de silice en phase normale éluee par le système isocratique AcOEt/MeOH/ H₂O (9:2:1) pour donner 12 fractions, la fraction F₆ (a-5) représente le produit **P₃** (30 mg).

Tableau 9: Fractionnement de la fraction B₁₃ sur colonne de gel silice en phase normale

Eluant	Fractions collectées	Volume (mL)	Masse (mg)
AcOEt/MeOH/H ₂ O (10/1/0.5)	F ₁	160	20.2
	F ₂	60	53.4
	F ₃	120	35.3
	F ₄	60	40.2
	F ₅	540	36.2
	F ₆	260	72.0
	F ₇	200	108.7
	F ₈	200	70.9
	F ₉	40	38.7
	F ₁₀	160	59.5
	F ₁₁	900	100.8
	F ₁₂	300	63.9
	F ₁₃	200	86.8
	F ₁₄	720	110.9
100% MeOH	F ₁₅	200	250.5

I.3.2.4 Etude de la fraction B₁₅

La fraction B₁₅ (50 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale éluée par système isocratique AcOEt/MeOH/H₂O (10:1:0.5). Des fractions de 12 mL ont été recueillies et réunies selon la similitude de leur profil en CCM. 7 sous fractions ont été obtenues (**tableau 10**). La sous fraction C₇ a été ensuite purifiée sur une colonne de gel de silice en phase normale éluée par le système isocratique AcOEt/MeOH/H₂O (9:2:1) pour donner les produits **P₄**, **P₅** et **P₆** ((6 mg) masse de la fraction), dont le produit **P₆** est le produit majoritaire.

Tableau 10: Fractionnement de la fraction B₁₅ sur colonne de silice en phase normale

Eluant	Fractions collectées	Volume (mL)	Masse (mg)
AcOEt/MeOH/H ₂ O	c ₁	84	10.1
	c ₂	72	8.3
	c ₃	48	6.7
	c ₄	72	8.6

(9/1/0.5)	c ₅	36	5.6
	c ₆	48	4.1
	c ₇	60	6

Il faut noter qu'on a un produit majoritaire, et les masses de chaque fraction a été relevée après précipitation du produit majoritaire.

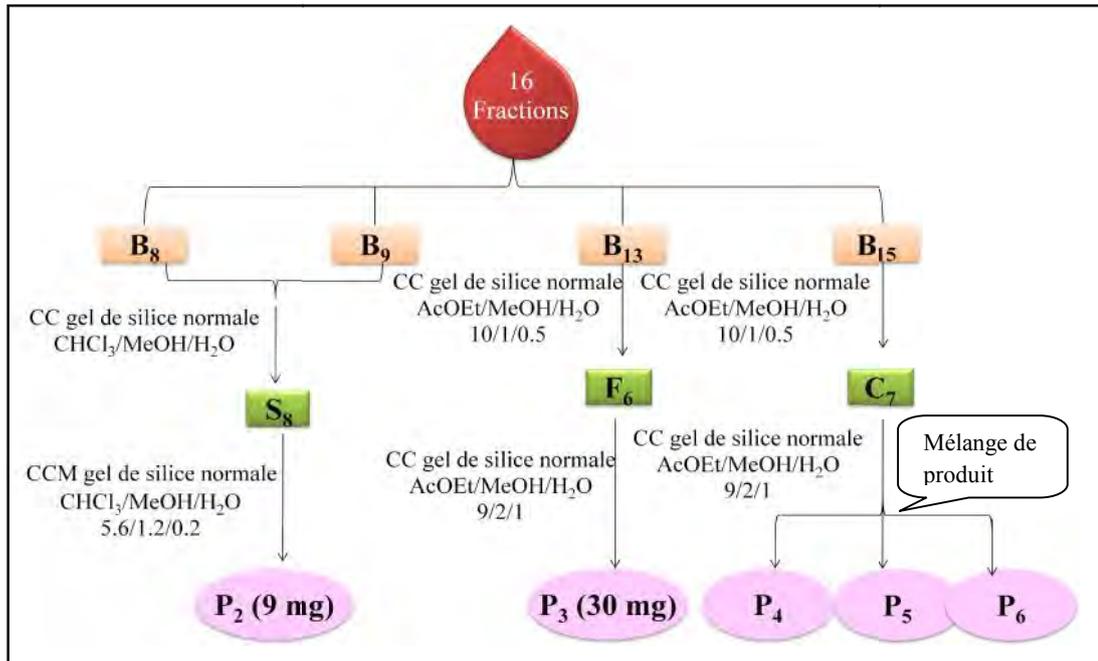


Figure 21: Schéma de purification des produits isolés de la fraction *n*-butanolique d'*Astragalus armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

CHAPITRE II:
Activités biologiques:

II.1. Évaluation du potentiel anti-radicalaire

L'évaluation de l'activité antioxydante a été déterminée par le test au DPPH, ABTS, CUPRAC et test de chélation des ions ferreux.

La valeur CI_{50} a été déterminée pour chaque extrait, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause l'inhibition de 50% de l'activité de DPPH[•] et ABTS^{•+}. Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constitué d'éthanol et de DPPH ou d'ABTS.

La valeur (CI_{50}) a été calculée du graphique du pourcentage d'inhibition du DPPH[•] et ABTS^{•+} en fonction de la concentration d'extrait. Le BHA et α -tocophérol ont été utilisés comme des standards pour la comparaison de l'activité pour servir comme moyen de comparaison.

Pour le test du CUPRAC, les résultats sont exprimés par des absorbances et comparé avec celles du BHA et α -tocophérol qui représentent des standards d'antioxydants.

Pour le test de chélation des ions ferreux, l'EDTA (l'acide éthylène diamine tétra-acétique) a été servi comme un standard d'antioxydant pour la comparaison avec l'activité des échantillons.

Les résultats ont été obtenus par la moyenne de trois mesures \pm écart type.

La concentration des solutions mères des deux fractions acétate d'éthyle (FAAA) et butanolique (FBAA) d'*Astragalus armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. est exprimée en ppm. Les tests ont été effectués sur 7 dilutions différentes.

A partir de la solution mère (F_1) (500 ppm), on a effectué des dilutions pour F_2 au 1/2, F_3 au 1/4, F_4 au 1/8, F_5 au 1/16, F_6 au 1/32 et F_7 au 1/64. De la même façon on a préparé la gamme des concentrations des standards.

II.1.1. Test du radical cation, l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+})

➤ Protocole

Ce test est déterminé selon la méthode de Re [321] avec une légère modification. [322].

L'ABTS^{•+} est le produit de la réaction de 7 mM d'une solution aqueuse d'ABTS mélangé à 2.45 mM de persulfate de potassium, après stockage dans l'obscurité à température ambiante entre 12-16 h. Avant l'utilisation, la solution d'ABTS^{•+} a été diluée

avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0.708 ± 0.025 à 734 nm. Alors, 160 μL de cette solution ont été ajoutés à 40 μL des différentes concentrations de chaque échantillon, ainsi que l'antioxydant standard α -tocophérol déposé déjà en triplicata sur une microplaque à 96 puits. Après 10 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 734 nm en utilisant le lecteur de microplaques à 96 puits. Le pourcentage d'inhibition a été calculé pour chaque concentration de l'absorbance du blanc (éthanol). La capacité de piéger l'ABTS^{•+} est calculée par la formule suivante :

$$ABTS^{•+} \% d'Inhibition = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où :

$A_{\text{contrôle}}$: est l'absorbance à la concentration initiale de l'ABTS^{•+}

$A_{\text{échantillon}}$: est l'absorbance à la concentration restante d'ABTS^{•+} en présence de la fraction d'échantillon d'*A.armatus* ou des standards antioxydants.

II.1.2. Test du 2,2-diPhényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH)

➤ Protocole

Ce test est déterminé selon la méthode de Blois [324] avec une légère modification [322].

Un volume de 40 μL de différentes concentrations de chaque échantillon testé ont été déposés sur une microplaque à 96 puits, de même pour l'antioxydant standard le α -tocophérol, puis on ajoute à chaque puits 160 μL d'une solution méthanolique de DPPH (0,4 mM). Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 40 μL du méthanol avec 160 μL d'une solution méthanolique de DPPH, à la même concentration utilisée. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance a été mesurée à 517 nm en insérant la microplaque dans le spectrophotomètre (SpectraMax 340PC³⁸⁴: lecteur de microplaques à 96 puits/ logiciel PRO v5.2 software).

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution. Celui-ci est calculé en utilisant la formule suivante :

$$DPPH^{\bullet} \% d'Inhibition = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où:

$A_{\text{contrôle}}$: est l'absorbance à la concentration initiale du DPPH.

$A_{\text{échantillon}}$: est l'absorbance à la concentration restante de DPPH[•] en présence de la fraction et des standards.

II.1.3. Test de chélation des ions ferreux

➤ Protocol

L'activité de chélation des ions Fe^{2+} a été mesurée en utilisant La Ferrine avec une légère modification [326].

La solution des fractions à différentes concentrations (40 μL) a été ajoutée à: 40 μL EtOH, 40 μL FeCl_2 (0.2 mM) et 80 μL feréne (0.5 mM). Le mélange a été secoué vigoureusement et laissé à température ambiante pendant 10 min. Après que le mélange a atteint l'équilibre, l'absorbance a été mesurée à 562 nm. L'activité de chélation du métal a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{effet de chélation du métal \%} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où :

$A_{\text{contrôle}}$: est l'absorbance du contrôle exempt d'échantillon

$A_{\text{échantillon}}$: est l'absorbance d'échantillon en présence du chélateur.

II.1.4. Capacité antioxydante de réduction cuprique (CUPRAC)

➤ Protocol

La capacité antioxydante de réduction cuprique des extraits a été déterminée selon la méthode d'Apak [327].

Dans chaque puits des 96 puits, 50 μL (10 Mm) de Cu (II), 50 μL (7.5 Mm) de neocuproïne et 60 μL du tampon NH_4Ac (1 M, pH=7.0), ont été ajoutées. 40 μL d'extrait de chaque concentration ont été ajoutés au mélange initial afin d'obtenir un volume de 200 μL . Après 1 h d'incubation l'absorbance à 450 nm a été enregistrée contre un blanc de réactif en utilisant le lecteur microplaque.

Après une heure du temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits l'absorbance a été enregistrée contre un blanc à 450 nm.

II.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des fractions chloroformique (ECAA), acétate d'éthyle (FAAA) et *n*-butanolique (FBAA) de l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) M. a été réalisée par la méthode de Bauer et ces co-auteurs et CLSI, 2007 [357, 358]. Elle a été effectuée au laboratoire de microbiologie au centre hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine (CHUC).

II. 2. 1. Identification des souches

✓ Trois souches de références provenant de l'institut Pasteur à Alger, qui sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

✓ Six souches qui sont isolées de différents prélèvements de malades du CHU qui ont été récupérées du laboratoire de microbiologie du CHU Benbadis de Constantine, qui sont: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*.

II.2.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme)

La technique utilisée dans notre travail est la technique de CLSI, 2007 [358]. Dans des boîtes de 9 cm contenant la gélose Mueller-Hinton dont l'épaisseur doit être de 4 mm répartie uniformément des disques du 6 mm (du papier Wattman N° 3 stérilisés), imprégnés des dilutions des fractions à tester, sont déposés à la surface du milieu, préalablement ensemencé en utilisant un écouvillon avec une suspension bactérienne. (Son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à des DO de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm). Des disques imprégnés d'ampicilline (10 µg/mL) servant de témoin positif, ont été aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée. Après 20 minutes de prédiffusion des solutions, les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de développement.

Pour chaque bactérie on mesure la zone de clarification en millimètres tout autour des disques.

II.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les CMI sont déterminées par la méthode standardisée de macro-dilution NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) en milieu solide. Il s'agit ici, de déterminer les plus faibles concentrations, auxquelles l'échantillon à tester présente encore une activité antibactérienne visible à l'œil nu.

II.2.3.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture en phase stationnaire de la bactérie à étudier en repiquant 0.3 mL (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) et 0.1 mL (les autres souches) de la culture de 18 heures dans 10 mL de bouillon M-H. Cette culture est ensuite placée au bain-marie, avec agitation à 37°C pendant 3 à 5 heures, jusqu'à l'apparition d'une légère opalescence (environ 5×10^7 bactéries/mL). Le bouillon ainsi obtenu, est dilué en mélangeant 1 mL de ce dernier à 10 mL de bouillon MH, préalablement chauffé à 37°C.

II.2.3.2. Préparation de la gamme de concentration des fractions

Une solution mère de chaque fraction est obtenue par solubilisation dans l'éthanol (d'une concentration finale de 2000 µg/ mL). Par la suite, une série de dilutions de raison géométrique 1/2, est réalisée en bouillon M-H à partir de la solution mère, allant de 1280 à 160 µg/ mL (1280, 640, 320, 160). Deux millilitres de chaque dilution de la fraction, sont alors incorporés à 18 mL de gélose M-H. Les mélanges sont immédiatement répartis dans des boîtes de Pétri, à raison de 20 mL de milieu par boîte. Les boîtes de Pétri sont laissées quelques minutes sur la paillasse, pour solidifier la gélose, puis séchées pendant 30 minutes à l'étuve à 37 °C.

Après solidification, l'inoculation bactérienne des géloses M-H contenant la fraction (essai) ou non (témoin), est effectuée en surface sous forme de stries à l'aide d'une pipette rodée ou une anse de platine. Enfin, les boîtes sont incubées 18 heures à 37 °C.

II.2.3.3. Lecture

Après incubation à 37°C pendant 18 heures, la CMI est définie comme étant la plus petite concentration de la fraction d'étude pour laquelle aucune croissance n'est visible, comparativement au témoin sans fraction.

II.3. Mise en évidence de l'activité immunomodulatrice

Pour l'activité immunomodulatrice nous avons testé seulement la fraction butanolique de l'espèce *Astragalus armatus* à cause de la faible quantité des deux autres fractions.

II.3.1. Animaux

Des souris mâles adultes *Mus musculus* (2-2,5 mois, 32-40 g) ont été achetés auprès de la pharmacie centrale de l'Algérie. Les animaux ont été gardés dans des cages polyacryliques et maintenus dans des conditions standard de logement (température ambiante 24-27 avec 12:12 lumière: cycles sombres). La nourriture a été fournie sous la forme de granulés secs (SARL production Locale, Bouzaréah. Algérie) et de l'eau *ad libitum*. Les études sur les animaux ont été menées après l'obtention de l'autorisation de Comité d'Ethique Animale Institutionnel et les expériences ont été menées dans le strict respect selon des principes et des lignes directrices fournies par le Comité aux fins de Contrôle et de Surveillance des Expériences sur les Animaux (CPCSEA).

II.3.2. Activité phagocytaire

L'activité phagocytaire de la fraction butanolique d'*A. armatus* (FBAA) a été évaluée *in vivo* par le test de taux de dégagement de carbone [352]. Les animaux ont été divisés en quatre groupes, GI, GII, GIII et GIV. Groupe I (témoin) a été administré par injection ip de 0.9 % de NaCl (0.5 mL/souris), Les groupes II, III et IV ont été administrés par différentes concentrations de la fraction butanolique d'*Astragalus armatus* (FBAA) (50, 70 et 100 mg/kg) respectivement. Après 48 h d'injection (ip) la suspension de l'encre de carbone a été injecté dans la veine de la queue de chaque souris à une dose de 0.1 mL /10 g, le mélange est composé de l'encre de noir de carbone 3 mL, solution saline 4 mL et de 3% de solution de gélatine à 4 mL. Des échantillons du sang ont été prélevés dans la veine rétro-orbital en utilisant des tubes capillaires en verre, à 5 et 15 min. Des gouttes d'échantillon du sang (14 gouttes) ont été mélangées avec une solution de carbonate de sodium à 0.1% (4 mL) pour la lyse des érythrocytes, l'absorbance mesurée à 675 nm en utilisant un spectrophotomètre.

L'activité phagocytaire est exprimée par l'indice phagocytaire K qui mesure la fonction de tout système réticulo-endothélial dans le contact avec le sang circulant. Le taux

de classement est exprimée comme la demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$ min). Celles-ci sont calculées au moyen des équations suivantes:

$$K = \frac{\text{Ln DO}_1 - \text{Ln DO}_2}{t_2 - t_1}, t_{1/2} = 0.693/K$$

Où :

DO₁ et DO₂ sont les densités optiques à des moments t_1 et t_2 , respectivement.

II.3.3. Analyse statistique

Toutes les données sur les tests de cette activité sont les moyennes des analyses de trois exemplaires. Les données ont été enregistrées en moyenne \pm sens d'erreur standard. Des différences significatives entre les moyennes ont été déterminées par le test de Student-*t*. Les valeurs $p < 0.05$ ont été considérées comme significatives. Les résultats de l'activité phagocytaire ont été analysés pour les différences entre les groupes à travers des traitements statistiques par le test one-way ANOVA et des tests de comparaison multiple de Tukey (SPSS version 9).

SOUS-PARTIE 3:
RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE I :
Détermination structurale des
produits isolés

I.1. Détermination structurale des produits obtenus

I.1.1. Détermination structurale du composé P₁

Le produit P₁ se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le MeOH. Ce composé présentant une fluorescence jaune sous la lumière de Wood ($\lambda = 254$ nm), indiquant qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavonol [360].

Les données de la série spectrale UV (**figure 22**) montrent :

- le spectre enregistré dans le MeOH montre deux bandes d'absorption, une bande II à 256 nm et une bande I à 360 nm orientant vers une structure flavonique de type flavonol.
- le déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda_1 = +55$ nm) avec augmentation de l'intensité provoquée par l'addition de NaOH comparativement au spectre enregistré dans le MeOH laisse supposer la présence d'un OH libre en 4' et la présence d'une nouvelle bande entre la bande I et la bande II indique la présence d'un OH libre en 7.
- l'addition de la solution d'AlCl₃ + HCl montre un déplacement bathochrome de la bande I de ($\Delta\lambda_1 = +45$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH indique la présence d'un groupe hydroxyle libre en position 5.
- l'absence de déplacement hypsochromique de la bande I lorsqu'on ajoute HCl au mélange MeOH+AlCl₃ indique qu'il n'y a pas de système ortho-dihydroxylé.
- le déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda_1 = +19$ nm) en comparant le spectre enregistré dans le MeOH et le spectre enregistré après ajout du NaOAc confirme la présence d'un OH libre en 7.

L'ensemble de ces données rassemblées dans le **tableau 11**, nous mène à proposer la structure partielle (**figure 23**).

Tableau 11: Données de la série spectrale UV du composé P₁

Solvants-Réactifs	λ_{\max} (nm)			Interprétation
	Bande I	Bande II	Autres bandes	
MeOH	360	256		Flavonol
NaOH	415	272	331	OH libre en 4' OH libre en 7
AlCl ₃	405	268		/
AlCl ₃ +HCl	400	268		OH libre en 5
NaOAc	384	275		OH libre en 7
NaOAc+H ₃ BO ₃	362	268		/
Le spectre est stable après 5 min de l'ajout du NaOH				

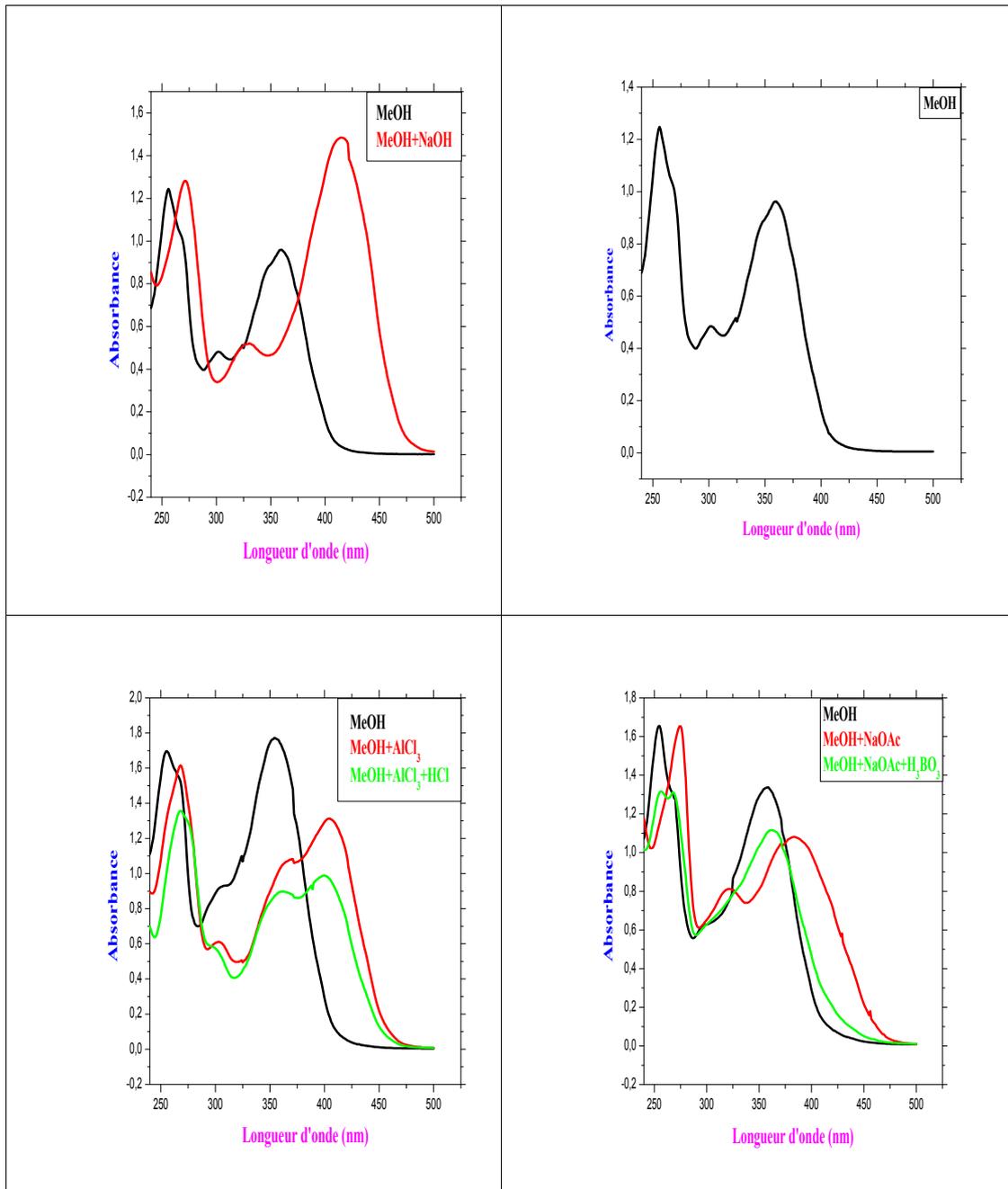


Figure 22 : La série spectrale UV du composé P₁

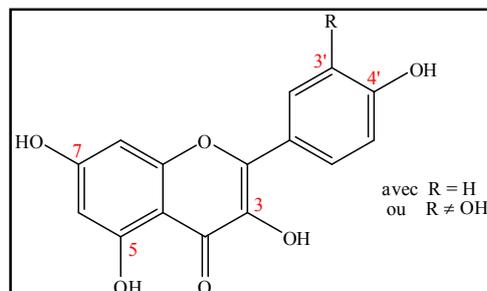


Figure 23 : Structure partielle du composé P₁

Le spectre RMN ^1H du composé **P₁** (**figure 24**) permet de mettre en évidence :

- un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6.03$ ppm ($J = 1.8$ Hz) attribuable à H-6 du cycle A et un deuxième doublet d'intégration 1H à $\delta = 6.08$ ppm de même constante de couplage ($J = 1.8$ Hz) attribuable à H-8 du cycle A. Ces deux signaux confirment la disubstitution du cycle A en position 5 et 7.
- un autre doublet d'intégration 1H à $\delta = 6.83$ ppm ($J = 8.5$ Hz) indiquant un couplage ortho attribuable à H-5'.
- un signal sous forme d'un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta = 7.63$ ppm ($J = 9.3$ Hz, 1.8 Hz) attribuable à H-6'.
- un autre signal sous forme d'un singulet large d'intégration 1H à $\delta = 7.67$ ppm attribuable à H-2' du cycle B.
- un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3.83$ ppm indiquant la présence d'un groupement méthoxyle (OCH_3). Ce dernier ne pourrait être qu'en position 3' d'après les données UV, par conséquent la structure est celle de l'isorhamnetine.

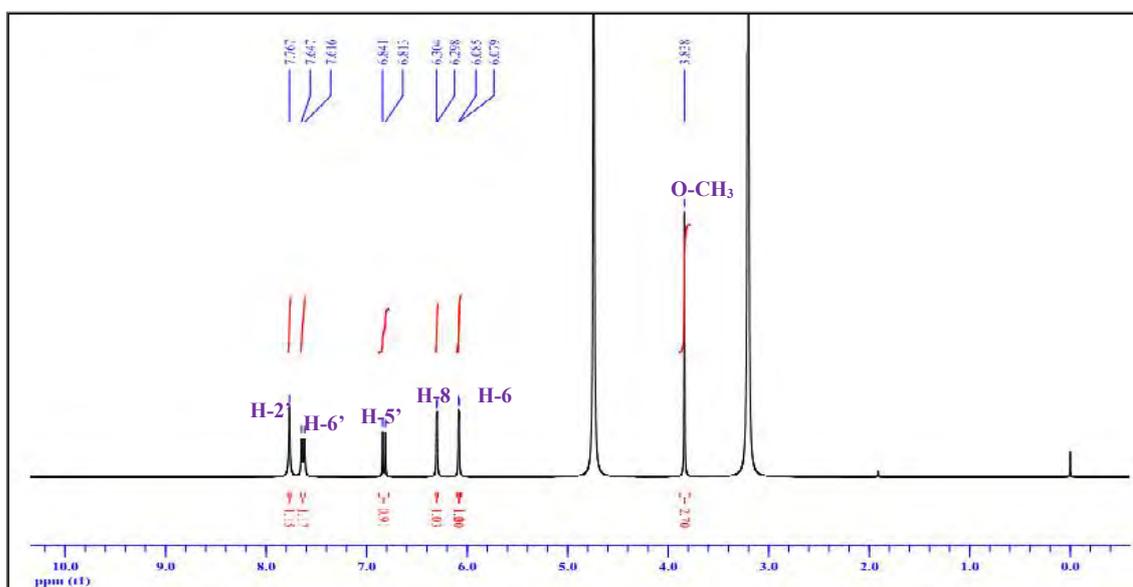


Figure 24: Spectre de RMN ^1H du composé **P₁** (CD_3OD , 400 MHz).

Le produit **P₁** (**figure 25**) est : l'isorhamnetine a déjà été isolé à partir d'*Astragalus ponticus* Pall. [359].

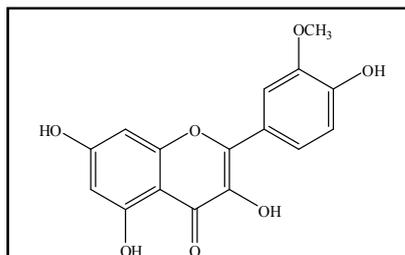


Figure 25 : Structure du composé **P₁**

I.1.2 Détermination structurale du composé P₂

Le spectre de RMN ¹H (**figure 26**) montre la présence de :

- sept signaux dont six sous forme de singulet et un sous forme de doublet de groupement méthyles dans la région blindée entre 0.85 et 1.19 ppm, intégrant pour trois protons chacun résonant à $\delta = 0.85$ ppm (3H, s, H-28), $\delta = 0.95$ ppm (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-21), $\delta = 1.00$ ppm (3H, s, H-29), $\delta = 1.05$ ppm (3H, s, H-18), $\delta = 1.07$ ppm (3H, s, H-30), $\delta = 1.16$ ppm (3H, s, H-26) et $\delta = 1.17$ ppm (3H, s, H-27) correspondant à un triterpène tétracyclique [361].
- deux signaux doublets à $\delta = 0.44$ ppm (1H, d, $J = 4.4$ Hz, H-19 exo) et $\delta = 0.79$ ppm (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-19 endo) typiques de deux protons non équivalents d'un noyau cyclopropane tétrasubstitué de composés à squelette 9,19-cyclotriterpénoïdes [88].
- deux signaux caractéristiques de deux unités osidiques dont les protons anomériques résonants à 4.31 ppm (d, $J = 7.6$ Hz) et 4.78 ppm (d, $J = 1.1$ Hz).

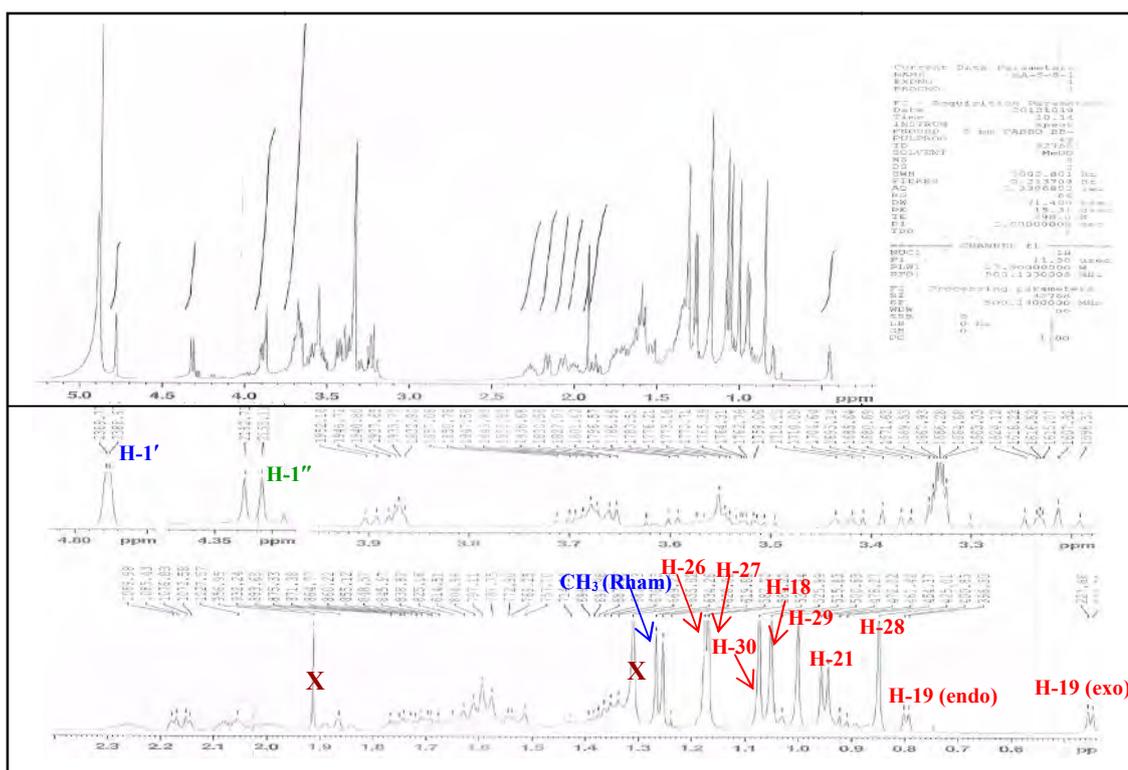


Figure 26: Spectre de RMN ¹H du composé P₂ (CD₃OD, 500 MHz).

Le spectre de RMN ¹³C *J*-modulé (**figure 27**) indique la présence de 41 carbones dont 30 sont attribués à la génine et 11 au deux sucres. On distingue quelques carbones caractéristiques :

- huit carbones méthyléniques résonants entre $\delta=14.6$ ppm et 26.4 ppm.
- deux carbones anomériques à 104.3 ppm et 105.3 ppm.
- onze carbones de méthynes oxydés dont 6 appartiennent aux deux sucres.

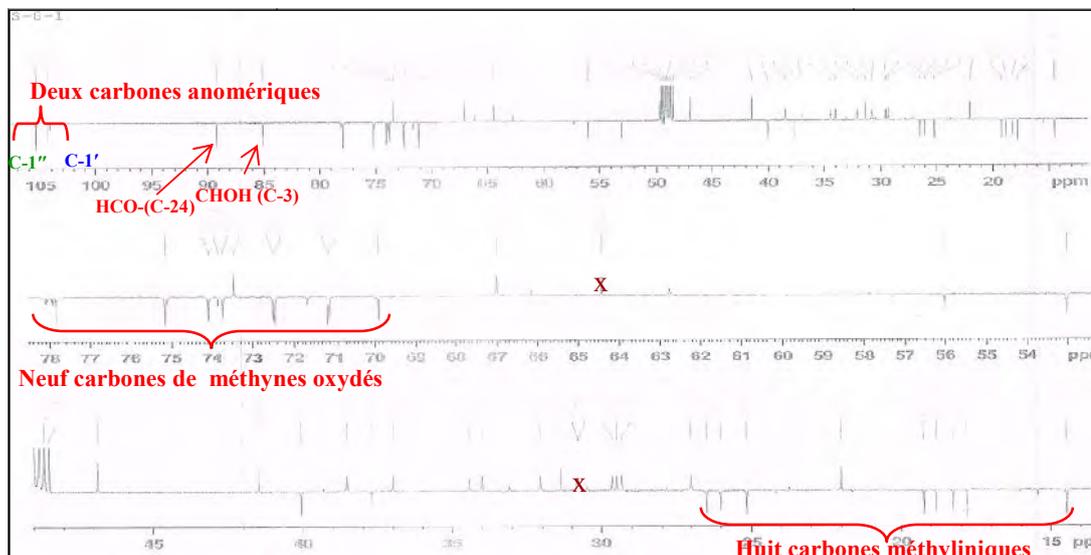


Figure 27: Spectre de RMN ^{13}C J -modulé du composé P_2 (CD_3OD , 125 MHz)

A partir des protons anomériques à 4.31 ppm (d , $J = 7.6$ Hz) et 4.78 ppm (d , $J = 1.1$ Hz), l'expérience COSY (**figure 28**) permet d'identifier les deux sucres comme étant : un α -L rhamnopyranose à partir de l'anomère à 4.78 ppm, caractérisé par son méthyle qui apparaît sous forme d'un doublet à 1.26 ppm (d , $J = 6.3$ Hz, H- 6') et un β -D-xylopyranose à partir de l'anomère à 4.31 ppm.

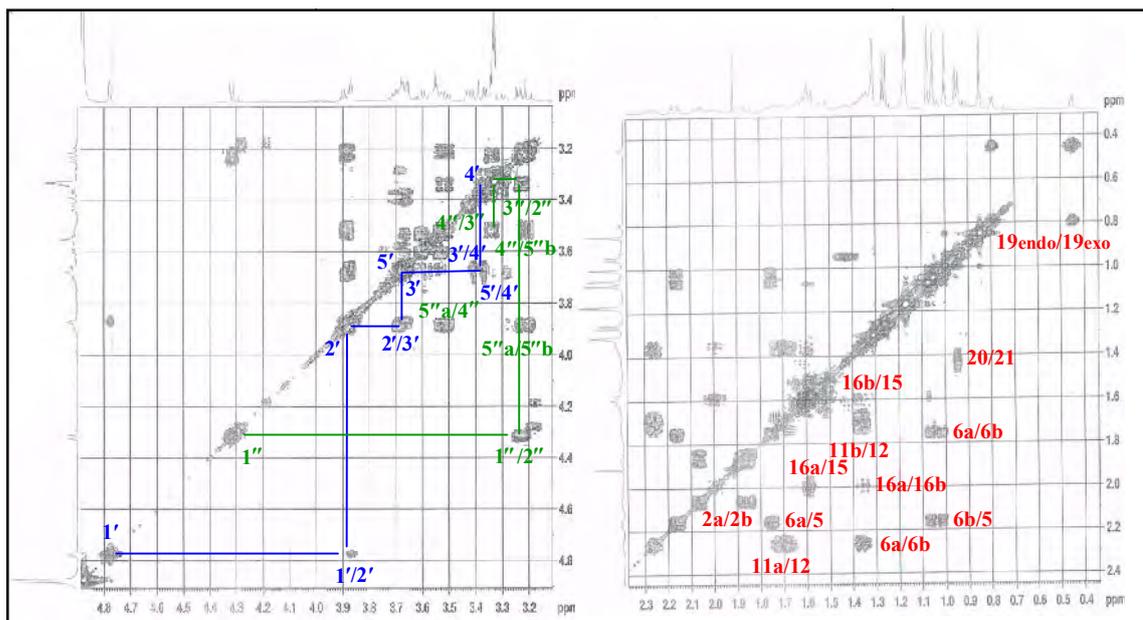


Figure 28: Spectre COSY du composé P_2

L'expérience HSQC *J*-modulé confirme l'identification des deux unités osidiques mettant en évidence les valeurs des déplacements chimiques de leurs carbones qui sont conformes à ceux de la littérature [362] (figure 29)

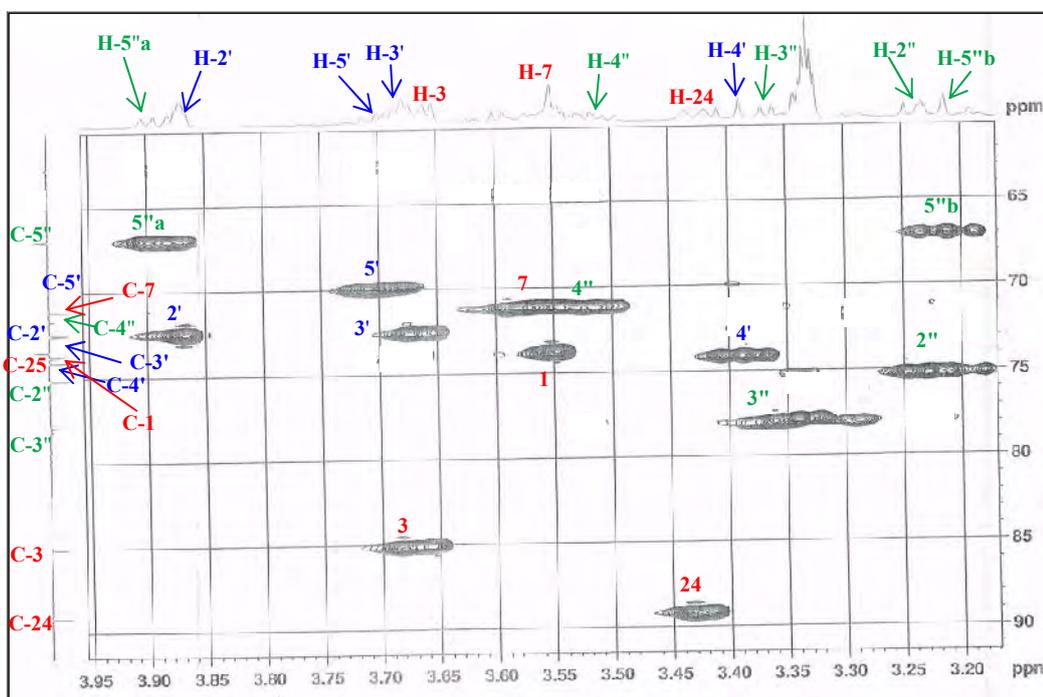


Figure 29 : Spectre HSQC *J*-modulé du composé P_2 (zone osidique)

L'expérience HSQC *J*-modulé permet d'identifier tous les carbones de ce composé en corrélation avec les protons qui sont préalablement déterminés par l'expérience COSY et HMBC.

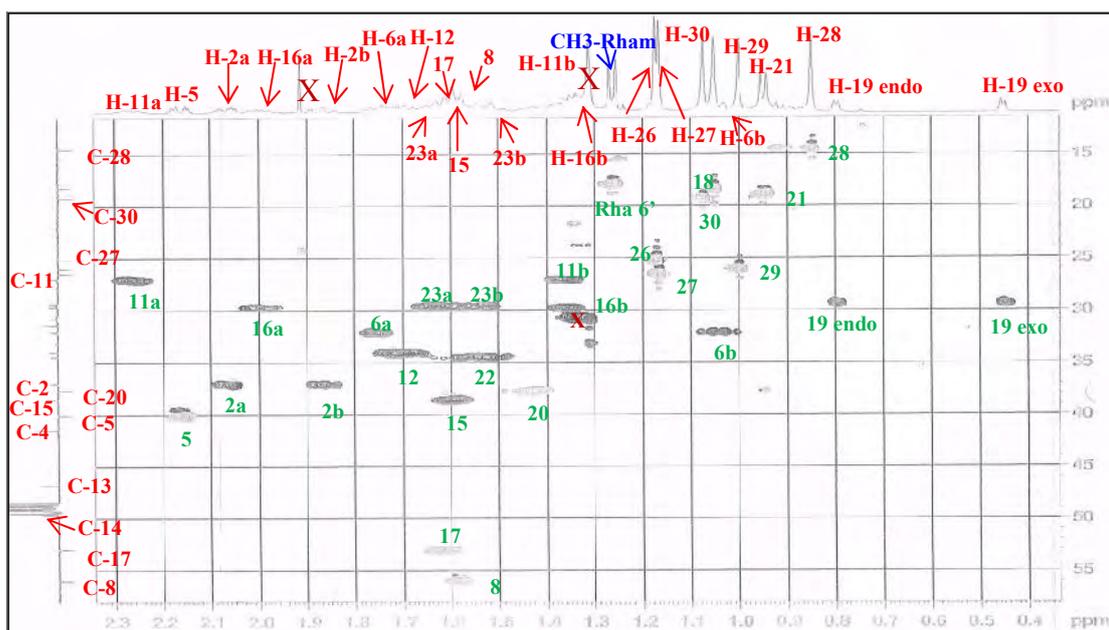


Figure 30: Spectre HSQC *J*-modulé du composé P_2 (partie de la génine)

L'expérience HMBC (**figure 31**) montre les taches de corrélation entre :

- les protons du groupement méthyle Me-28 et les carbones C-29 (δ_C 25.9), C-5 (δ_C 40.0) C-4 (δ_C 41.4) et C-3 (δ_C 85.1)
- les protons du groupement méthyle Me-29 et les carbones C-28 (δ_C 14.6), C-5, C-4 et C-3 déjà attribués
- les protons du groupement méthylènes Me-21 et les carbones C-22 (δ_C 34.4), C-20 (δ_C 37.6) et C-17 (δ_C 53.0).
- les protons du groupement méthyle Me-18 et les carbones C-12 (δ_C 33.9), C-13 (δ_C 46.8), C-14 (δ_C 49.6) et C-17.
- les protons du groupement méthyle Me-30 et les carbones C-8 (δ_C 56.0), C-15 (δ_C 38.5), C-13 et C-14.
- les protons du groupement méthyle Me-27 et les carbones C-26 (δ_C 25.1), C-25 (δ_C 73.4) et C-24 (δ_C 89.1).
- les protons du groupement méthyle Me-26 et les carbones C-27 (δ_C 26.4) C-25 et C-24.
- les protons H-19 (exo et endo) et les carbones C-1 (δ_C 73.7), C-8 (δ_C 56.0), C-9 (δ_C 21.9), C-10 (δ_C 31.3), C-11 (δ_C 26.9) et C-5.

Les données du spectre HMBC permettent de construire l'enchaînement carboné de ce composé. La combinaison avec les données des expériences COSY et HSQC conduisent à l'élucidation de la partie aglycone de ce produit.

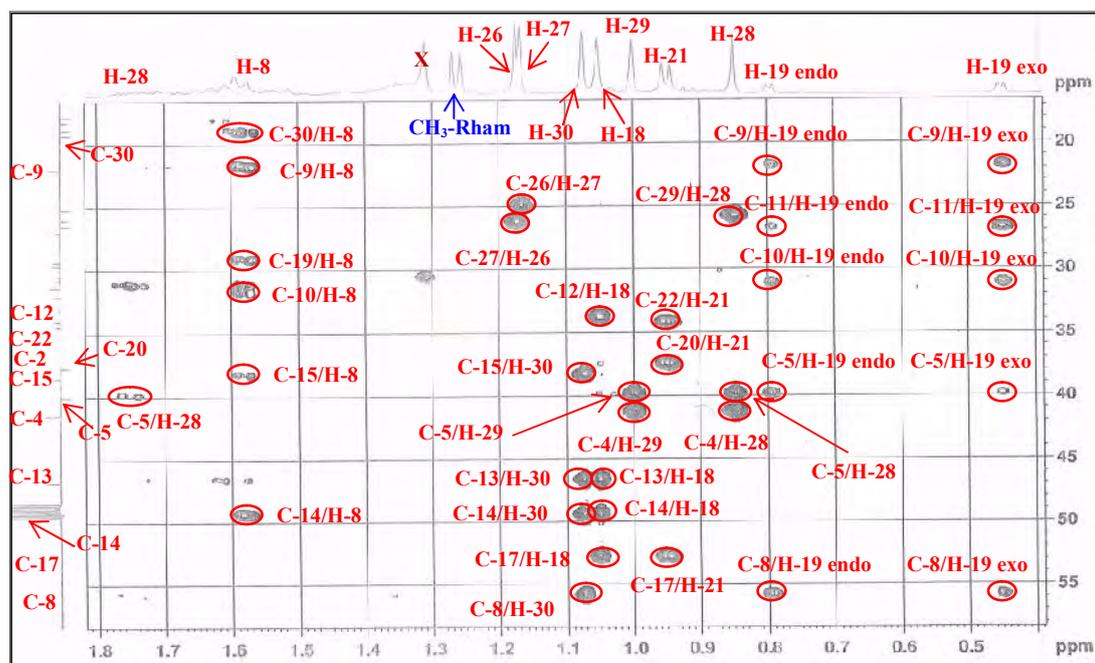


Figure 31: Spectre HMBC du composé **P₂** (partie aglycone)

La corrélation en $^3J_{H-C}$ observée toujours sur le spectre HMBC (**figure 32**) entre le proton anomérique H-1' résonnant à 4.78 ppm et le carbone C-3 de la génine montre que ce rhamnose est attaché à l'hydroxyle en position 3 de cette génine, ainsi la corrélation en $^3J_{H-C}$ observée sur le même spectre entre le proton anomérique H-1'' du deuxième sucre xylose résonnant à 4.31 ppm et le carbone C-24 de la génine, montre que ce sucre est attaché à l'hydroxyle en position 24. La grande constante de couplage du proton H-3 indique que l'orientation de la liaison C₃-O est équatoriale. Cependant, les constantes de couplage des protons H-2a et H-2b permettent d'attribuer une orientation α de l'hydroxyle du carbone 1. Le spectre HSQC montre une grande tache de corrélation entre le C-7 et son proton H-7 indiquant un grand couplage du proton en question avec les protons voisins par conséquent l'hydroxyle porté par le carbone C-7 est en orientation β . (**tableau 12**)

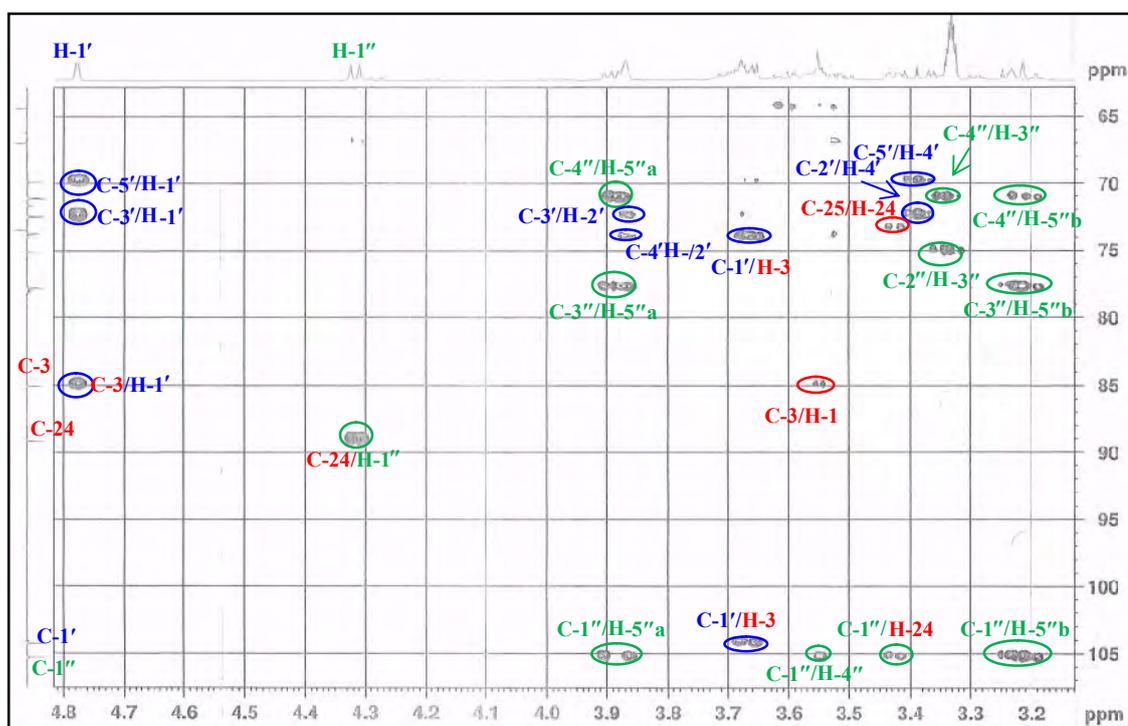


Figure 32: Spectre HMBC du composé **P₂** (zone osidique)

Dans la littérature le déplacement chimique du carbone C-24 substitué par un hydroxyle a été utilisé pour la détermination de la configuration absolue en cette position. La configuration 24R donne des résonances de 80 à 80.5 ppm alors que 24S donne une résonance de 77 à 77.2 ppm la glycosylation du 24R donne des déplacements chimique 86 à 89 ppm d'ou la configuration absolue 24R pour le produit **P₂**.

Le produit **P₂** (**figure 33**) est le : 24R-Cycloartan-1 α , 3 β , 7 β , 24, 25-pentaol-3-O- α -L-rhamnopyranoside-24-O- β -D-xylopyranoside.

Cette structure s'est avérée identique à celle de la cyclomacroside D, isolée seulement une fois à partir d'*Astragalus macropus* Bunge [166]. Il est nouveau dans l'espèce.

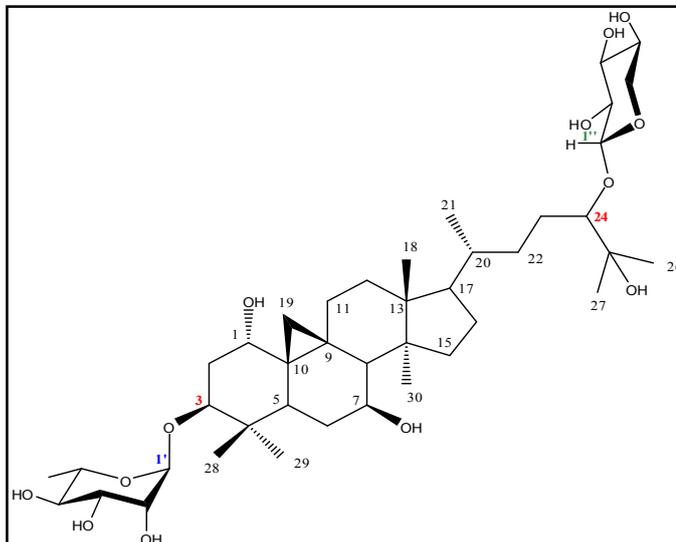


Figure 33: Structure du composé **P₂**

Tableau 12 : Déplacements chimiques en RMN ¹H (500 MHz) et RMN ¹³C (125 MHz) du composé **P₂** dans CD₃OD

N°	δ_C	δ_H (m, J Hz)	N°	δ_C	δ_H (m, J Hz)
1	73.7	3.55 m	23	29.4	1.53 m, 1.63 m
2	36.9	1.87 (td, 11.5, 1.9), 2.07 (dt, 11.5, 3.8)	24	89.1	3.43 (dl, 8.1)
3	85.1	3.66 (dd, 9.6, 3.5)	25	73.4	-
4	41.4	-	26	25.1	1.17 s
5	40.0	2.16 (dd, 7.0, 4.5)	27	26.4	1.16 s
6	32.0	1.75 m	28	14.6	0.85 s
7	71.1	3.57 m	29	25.9	1.00 s
8	56.0	1.6 m	30	19.2	1.07 s
9	21.9	-	Rhamnose (en C-3)		
10	31.3	-	1'	104.3	4.78 (d, 1.1)
11	26.9	1.36 m, 2.26 m	2'	72.4	3.87 (dd, 2.9, 1.9)
12	33.9	1.71 m	3'	72.5	3.67 (dd, 9.6, 3.1)
13	46.8	-	4'	74.1	3.39 (t, 9.5)
14	49.6	-	5'	69.9	3.70 m
15	38.5	1.59	6'	17.8	1.26 (d, 6.3)
17	53.0	1.63 m	Xylose (en C-24)		
18	18.2	1.05 s	1''	105.3	4.31 (d, 7.6)
19	29.3	0.44 (d, 4.4) exo, 0.79 (d, 4.5) endo	2''	75.1	3.23 (dd, 9.6, 7.6)
20	37.6	1.43 m	3''	77.8	3.34 (t, 9.1)
21	18.8	0.95 (d, 6.2)	4''	71.1	3.52 m
22	34.4	1.48, 1.55 m	5''	66.9	3.21 (t, 10.0) 3.89 (dd, 11.3, 5.5)

I.1.3. Détermination structurale du composé P₃

Les données de la série spectrale UV (**figure 34**) montrent :

- le spectre enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption, une bande II à 254 nm et une bande I à 357 nm orientant vers une structure flavonique de type flavone ou flavonol substitué (3-OR).
- le déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda_I = +59$ nm) avec augmentation de l'intensité provoquée par l'addition de NaOH comparativement au spectre enregistré dans le MeOH laisse supposer la présence d'un OH libre en 4' et la présence d'une nouvelle bande entre la bande I et la bande II indique la présence d'un OH libre en 7.
- l'addition de la solution d'AlCl₃+HCl montre un déplacement bathochrome de la bande I de ($\Delta\lambda_I = +46$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, indique la présence d'un groupe hydroxyle libre en position 5.
- l'absence de déplacement hypsochromique de la bande I lorsqu'on ajoute HCl au mélange MeOH+AlCl₃ indique qu'il n'y a pas de système ortho-dihydroxylé.
- le déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda_{II} = +20$ nm) en comparant le spectre enregistré dans le MeOH et le spectre enregistré après l'ajout de la base faible NaOAc confirme la présence de OH en 7).

L'ensemble de ces données rassemblées dans le **tableau 13**, nous mène à proposer la structure partielle du composé P₃ (**figure 35**).

Tableau 13: Données de la série spectrale UV du composé P₃

Solvants-Réactifs	λ_{\max} (nm)			Interprétation
	Bande I	Bande II	Autres bandes	
MeOH	357	254		Flavone ou flavonol-3OR
NaOH	416	271	330	OH libre en 4' OH libre en 7
AlCl ₃	405	268		/
AlCl ₃ +HCl	403	268		OH libre en 5
NaOAc	387	274		OH libre en 7
NaOAc+H ₃ BO ₃	368	270		/

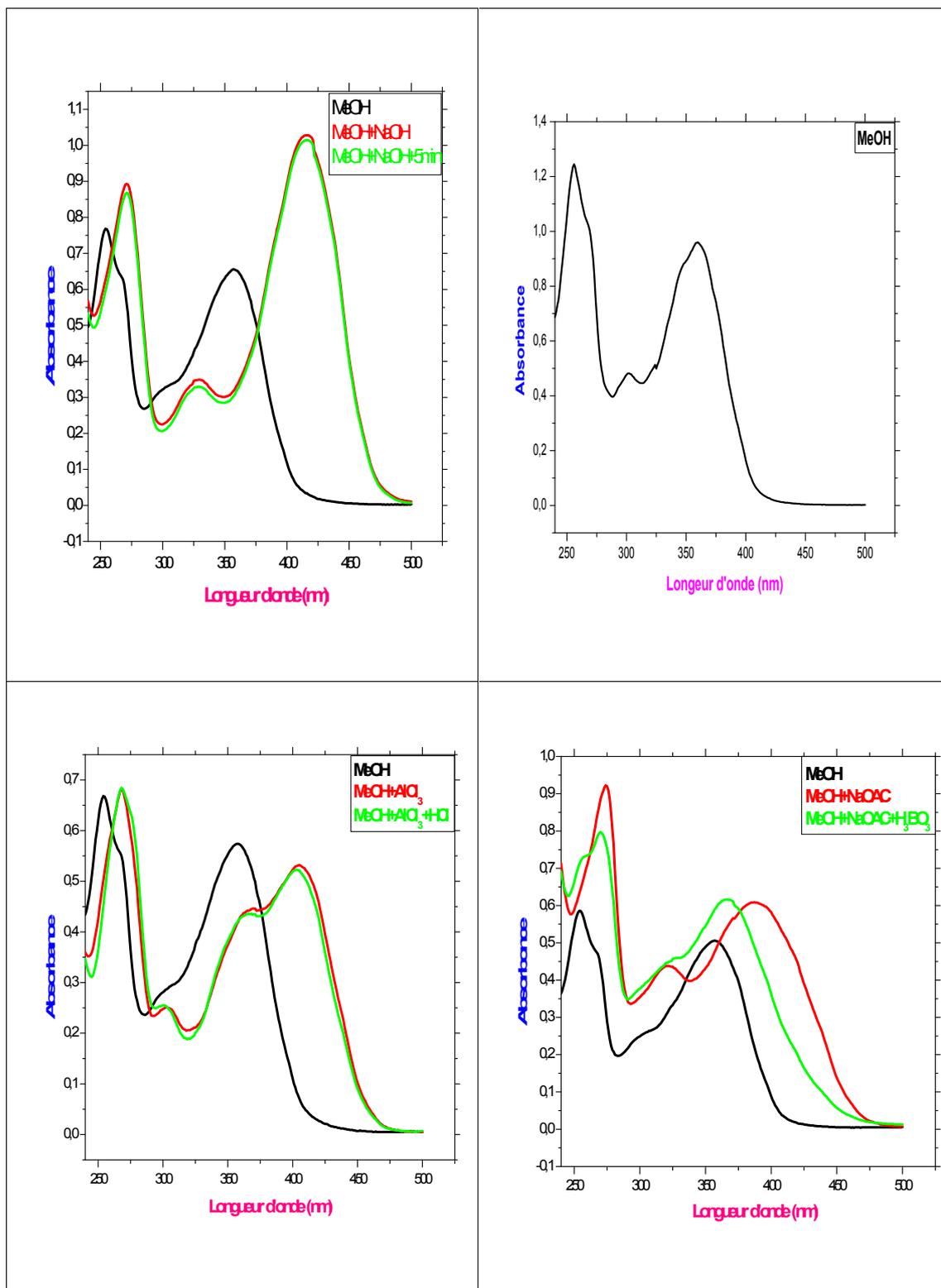


Figure 34: La série spectrale UV du composé P₃

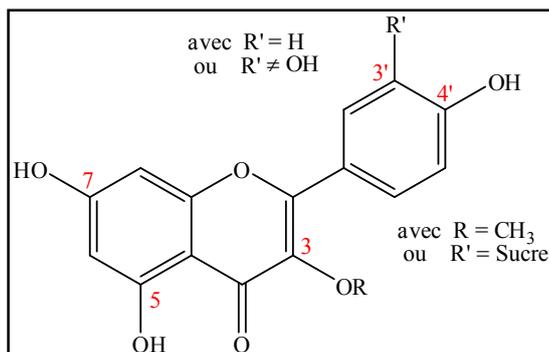


Figure 35: Structure partielle du composé **P₃**

Le spectre RMN ¹H du composé **P₃** (**figure 36**) permet de mettre en évidence :

- l'absence d'un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H confirme qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavonol 3-OR.
- un doublet d'intégration 1H à $\delta = 6.19$ ppm ($J = 2$ Hz) attribuable à H-6 du cycle A et un deuxième doublet d'intégration 1H à $\delta = 6.37$ ppm de même constante de couplage ($J = 2$ Hz) attribuable à H-8 du cycle A. Ces deux signaux confirment la disubstitution de ce noyau aromatique en position 5 et 7.
- un autre doublet d'intégration 1H à $\delta = 6.92$ ppm ($J = 8.5$ Hz) indiquant un couplage ortho attribuable à H-5'.
- un signal sous forme d'un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta = 7.62$ ppm ($J = 8.4$ Hz, 2 Hz) indique un couplage ortho et méta, il est attribuable à H-6'.
- un autre signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à $\delta = 8.04$ ppm ($J = 2$ Hz) attribuable à H-2' du cycle B.
- un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3.99$ ppm indiquant la présence d'un groupement méthoxyle (OCH₃).
- la présence de 10 signaux à δ compris entre 3.30 et 3.84 ppm caractéristiques des protons du sucre indique la présence de deux sucres dont les protons anomériques apparaissent à $\delta = 5.20$ ppm (d, $J = 7.8$ Hz), $\delta = 4.55$ ppm (d, $J = 1.5$ Hz).

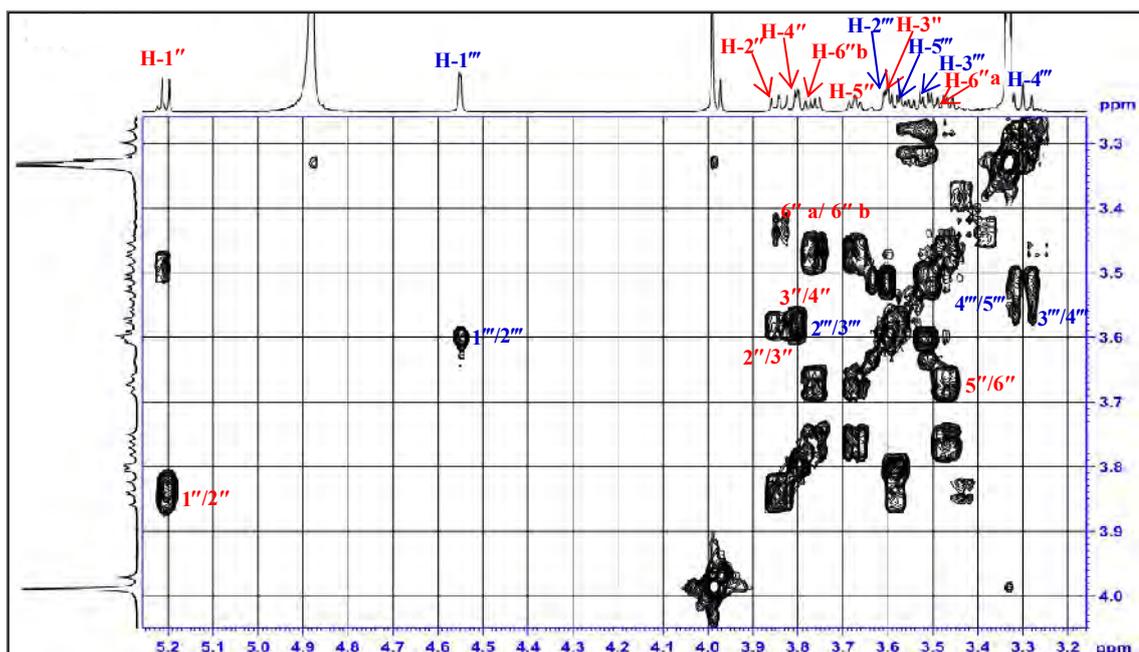


Figure 37: Spectre COSY du composé P₃ (zone osidique).

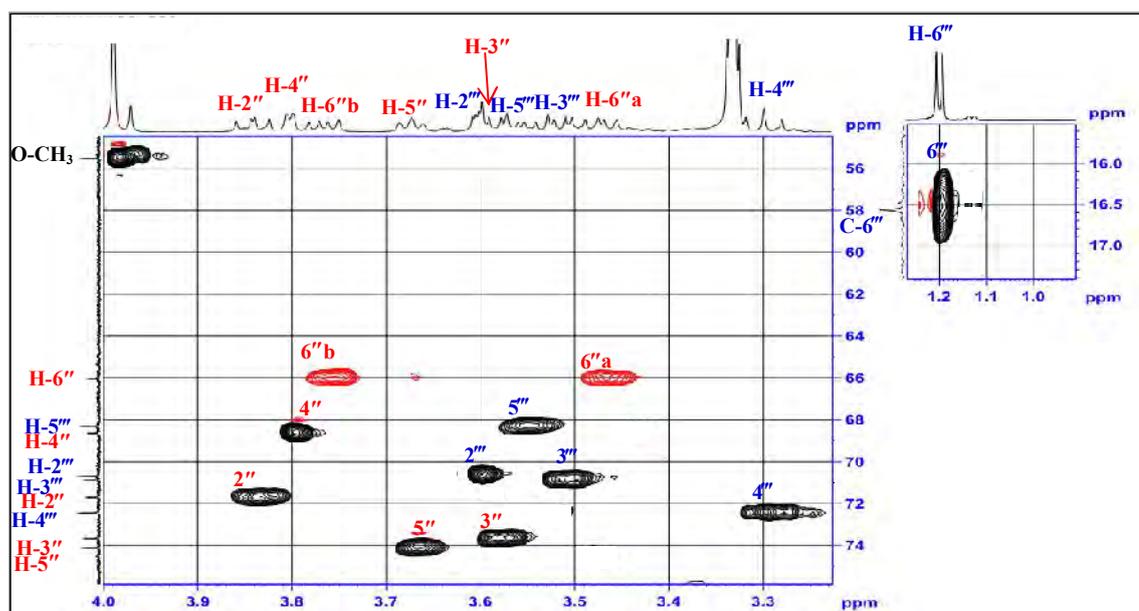


Figure 38: Spectre HSQC de la partie osidique du composé P₃

Le spectre HMBC (figure 39 et 40) montre des corrélations H-C entre :

- le carbone C-3' résonant à 147 ppm et les protons du méthoxyle correspondants au signal à 3.99 ppm.
- le carbone C-3 et le proton anomérique H-1'' du galactose, les protons H-6'' du galactose, et le carbone C-1''' du rhamnose et inversement entre le carbone C-6'' du galactose (dont le déplacement chimique déblindé à 66.0 ppm indique qu'il porte un substituant OR) et

le proton H-1''' du rhamnose mettant en évidence la liaison ou l'enchaînement diosidique α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -galactopyranosyl en position 3 de la génine.

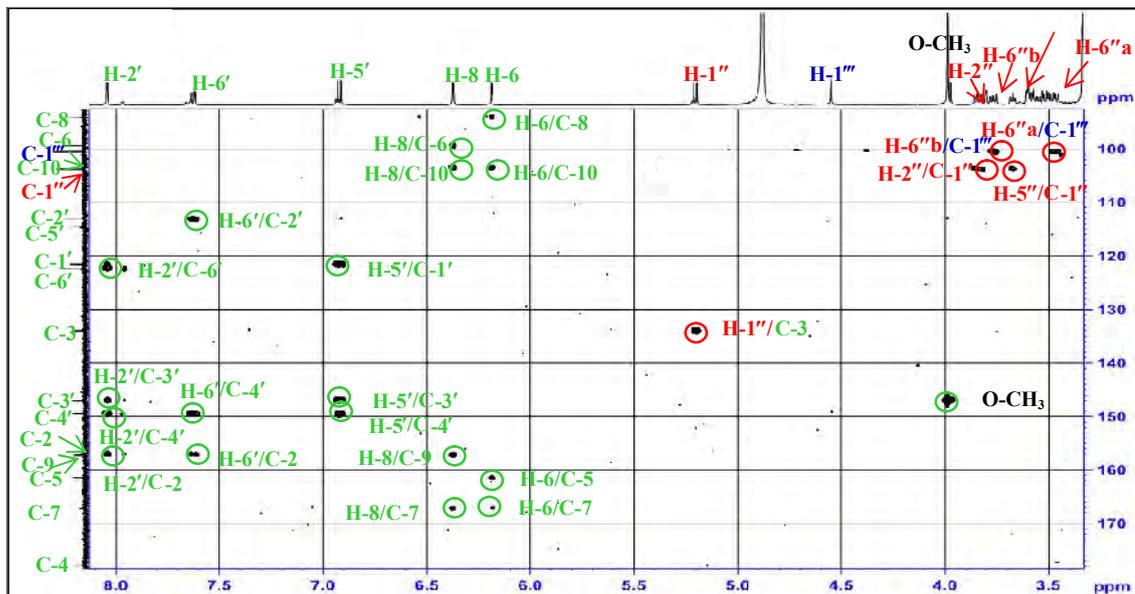


Figure 39 : Spectre HMBC du composé P₃ (partie I : δ_C entre 100 et 170 ppm)

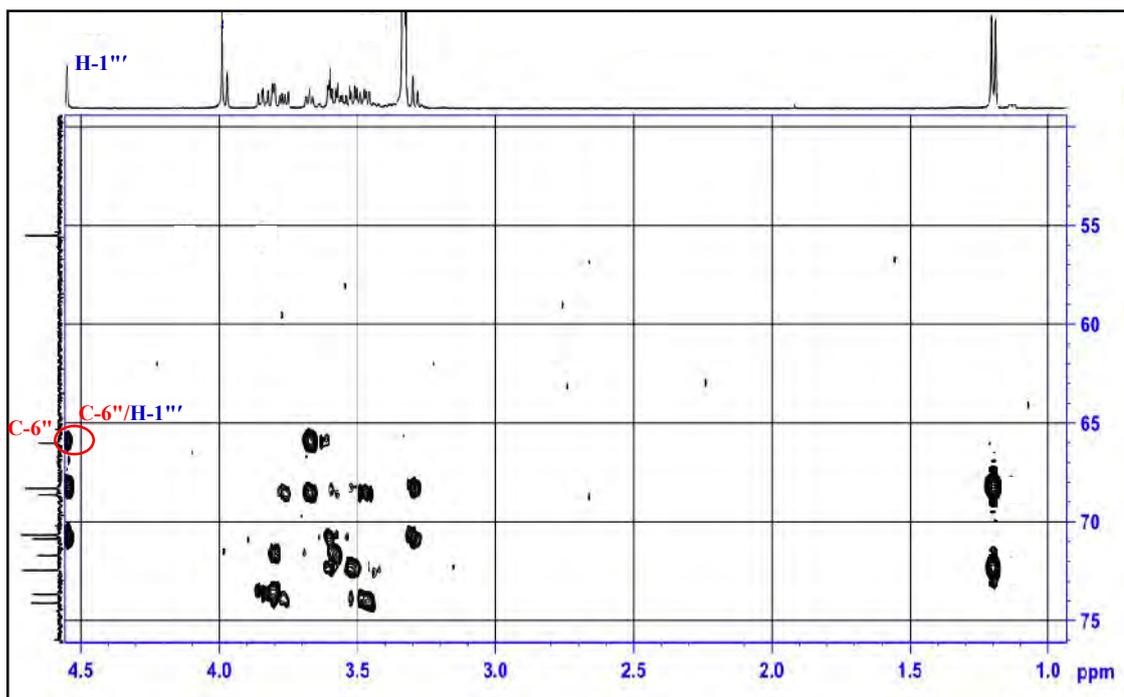


Figure 40: Spectre HMBC du composé P₃ (partie II : δ_C entre 55 et 75 ppm)

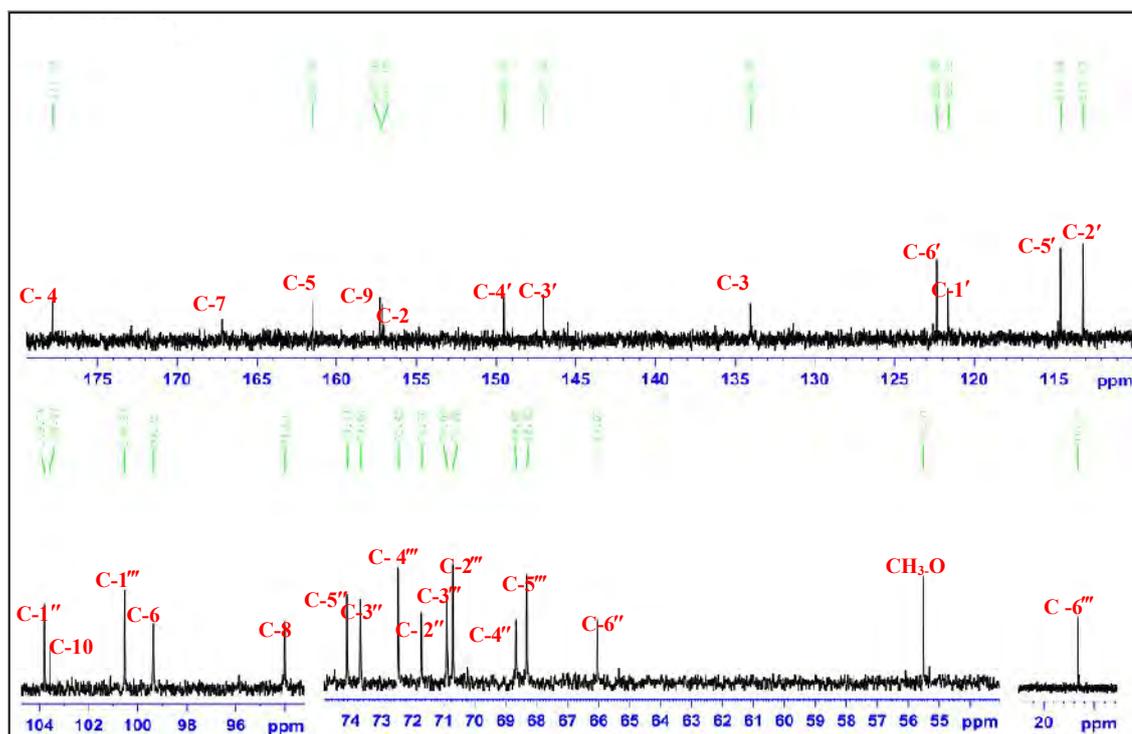


Figure 41: Spectre de RMN ^{13}C du composé P_3 (CD_3OD , 125 MHz)

Le produit P_3 (figure 42) est le : 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopyranosyl] isorhamnetine. Ce produit a déjà été isolé à partir d'*Alhagi kirgisorum* [363] et *A. vulnerariae* [227], est nommé aussi (isorhamnetin-3-*O*- β -robinobioside).

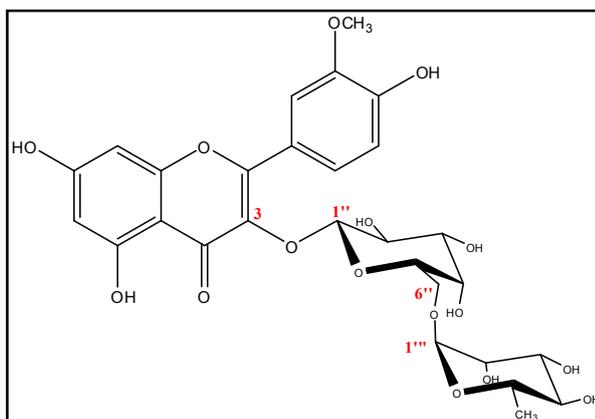


Figure 42: Structure du composé P_3

Tableau 14: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) du composé **P₃** dans CD_3OD .

N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	157.1	-	Galactose (en C-3)		
3	134.0	-	1''	103.8	5.20 (d, 7.8)
4	177.8	-	2''	71.7	3.84 (dd, 9.6, 7.9)
5	161.5	-	3''	73.7	3.58 (dd, 9.6, 3.3)
6	99.3	6.19 (d, 2.0)	4''	68.6	3.8 (dd, 2.8)
7	167.0	-	5''	74.1	3.67 m
8	94.0	6.37 (d, 2.0)	6''a	66.0	3.47 (dd, 10.2, 6.7)
9	157.3	-	6''b	66.0	3.77 (dd, 10.2, 5.6)
10	103.6	-	Rhamnose (en C-6'')		
1'	121.6	-			
2'	113.2	8.04 (d, 2.0)	1'''	100.5	4.55 (d, 1.5)
3'	147.0	-	2'''	70.7	3.6 (dd, 3.6, 1.7)
4'	149.5	-	3'''	70.9	3.52 (dd, 9.5, 3.4)
5'	114.6	6.92 (d, 8.5)	4'''	72.5	3.3 (t, 9.5)
6'	122.3	7.62 (dd, 8.4, 2.0)	5'''	68.3	3.55 m
Me-O	55.5	3.99	6'''	16.6	1.20 (d, 6.3)

I.1.4. Détermination structurale des composés **P₄**, **P₅** et **P₆**

I.1.4-a. Détermination structurale du composé **P₄**

Le spectre RMN ^{13}C *J*-modulé (**figure 43**) et ce même spectre étalé, montrent clairement la présence de 7 signaux majoritaires dont 6 apparaissent entre 70 et 83 ppm et correspondent à 6 carbones méthynes. Cependant, le signal qui apparaît à 59.4 ppm est relatif à un carbone d'un groupement méthoxyle.

A partir du spectre HSQC (**figure 44**), on peut corrélérer les carbones signalés ci-dessus résonant respectivement aux valeurs 70.6, 71.1, 72.1, 72.4, 72.9 et 83.5 ppm à travers les taches de corrélation aux protons résonants respectivement à 3.76, 3.72, 3.91, 3.91, 3.61 et 3.27 ppm.

Le spectre RMN ^1H (**figure 45**) confirme la prédominance de ces signaux par rapport aux autres.

Sur le spectre COSY (**figure 46**), permet aisément de mettre en évidence le couplage entre H-1 (δ_{H} 3.91, m) et H-2 (δ_{H} 3.76, dd, 9.7, 2.1 Hz), ce dernier proton corrèle avec H-3 (δ_{H} 3.27, t, 9.5 Hz). Les constantes de couplage des protons H-2 et H-3 indiquent qu'ils ont une position axiale alors que le proton H-1 est équatorial. En outre H-3 est corrélé avec le proton H-4 (δ_{H} 3.61, t, 9.5) qui est lui-même en corrélation avec le proton

H-5 (δ_H 3.72, dd, 9.6, 2.1 Hz), finalement ce dernier couple avec H-6 (δ_H 3.91, m). Les positions axiales des protons H-4 et H-5 et équatoriales de H-6 sont indiquées par les constantes de couplage. Les protons H-6 et H-1 sont représentés par un multiplet ayant pratiquement le même déplacement chimique qui est due aux couplages d'une part de H-1 avec H-6 et H-2 et d'autre part de H-6 avec H-1 et H-5. Le proton H-3 blindé à 3.27 ppm est porté par le carbone C-3 le plus déblindé résonant à 83.5 ppm car son hydroxyle est substitué par un méthoxyle. Cette déduction est confirmée par les taches de corrélation du spectre HMBC (**figure 47**) associées aux carbones du méthoxyle ($\delta_C = 59.4$ ppm) et le proton H-3 ($\delta_H = 3.27$ ppm) et inversement au carbone C-3 ($\delta_C = 83.5$ ppm) et les protons du méthoxyle ($\delta_H = 3.63$ ppm).

Tous ces résultats, nous mène à proposer la structure du 3-méthoxycyclohexane 1,2,4,5,6 pentol, connu aussi sous le nom D-Pinitol ou bien 3-méthoxy D-chiroinositol . Il a déjà été isolé à partir d'*Astragalus verrucosus* [104] (**figure 51**).

I.1.4-b. Détermination structurale du composé P₅

L'analyse du spectre de RMN 1H (**figure 45**) du composé P₅ montre la présence de quatre signaux pour six protons aromatiques caractéristiques d'un kaempférol :

- un doublet d'intégration 2H à $\delta = 8.06$ ppm ($J = 8.4$ Hz) caractéristique des protons en couplage ortho H-2' et H-6'.
- un autre doublet d'intégration 2H à $\delta = 6.90$ ppm ($J = 8.7$ Hz) caractéristique des protons en couplage ortho H-3' et H-5'.
- deux singulets larges d'intégration 1H chacun à 6.12 et 6.29 ppm, correspondent respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A.

Sur le spectre de RMN 1H (**figure 45**) d'un coté, trois protons anomériques sont distingués à 4.54 ppm sl, 5.24 ppm sl et 5.57 (d, $J = 7.7$ Hz). Leurs carbones ont été attribués à l'aide du spectre HSQC (**figure 44**), résonnent à 100.4, 101.2 et 99.5 ppm, respectivement.

D'un autre coté 2 méthyles sont assignés à 2 doublet l'un à 1.20 ppm ($J = 6.2$ Hz) et l'autre à 1.02 ppm ($J = 6.2$ Hz) et corrélés aux carbones respectifs à 16.6 ppm et 16.2 ppm à l'aide du spectre HSQC (**figure 44**). Ces données traduisent probablement la présence de deux unités rhamnose.

La comparaison des spectres RMN ^1H et HSQC (**figures 45, 44**) avec ceux du produit **P₃** indiquent une similitude de certains signaux du point de vue déplacement chimique ou multiplicité. De plus la présence de nouveaux signaux pourrait être attribuée à un second rhamnose. Par ailleurs, certains signaux présentent un dédoublement avec une intégration plus faible de leur pic indique la présence d'un autre produit minoritaire **P₆**.

L'analyse des spectres COSY (**figure 46**) et HSQC (**figure 44**) permet d'identifier les deux sucres communs avec le composé **P₃** qui sont :

- un β -D-galactopyranose à partir de l'anomère à 5.57 ppm (H-1"). Le déblindage des carbones C-2" et C-6" du glucose à 76.2 ppm et 65.7 ppm, respectivement suggère des substitutions du galactose en ces positions.
- un α -L- rhamnopyranose terminal à partir de l'anomère à 4.54 ppm caractérisé par son méthyle à 1.20 ppm (d, $J = 6.2$ Hz)
- un autre α -L- rhamnopyranose terminal à partir de l'anomère à 5.24 ppm caractérisé par son méthyle à 1.02 ppm (d, $J = 6.2$ Hz)

L'analyse du spectre HMBC (**figures 48 et 49**) nous a permis de déterminer l'enchaînement triosidique, les corrélations $^3J_{\text{H-C}}$ suivantes ont été visualisées :

- H-1" Gal à 5.57 ppm (d, $J = 7.7$ Hz) et le carbone C-3 de la génine à 132.8 ppm.
- H-1"' Rha à 5.24 ppm sl, et le carbone C-2" du galactose à 76.2 ppm.
- H-1"" Rha à 4.54 ppm sl, et le carbone C-6" du galactose à 65.7 ppm.

L'analyse des spectres de RMN ^1H , RMN ^{13}C J -modulé, HSQC, HMBC, du produit **P₅** a permis d'attribuer tous les signaux et d'identifier ce composé au 3-*O*-(2, 6-di-*O*- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-galactopyranosyl) kaempférol. Ce produit a été isolé à partir d'*Astragalus sieberi* DC [213] est connu sous le nom mauritanine (**figure 52**).

I.1.4-c. Détermination structurale du composé **P₆**

Les spectres de RMN ^1H (**figure 45**), et RMN ^{13}C J -modulé (**figure 43**), du produit **P₆** présentent de fortes similitudes avec celui du composé **P₅**.

Le dédoublement des signaux correspondants :

- aux protons du cycle B du kaempferol ($\delta_{\text{H}} = 8.02$ ppm, d, $J = 8.7$ Hz et $\delta_{\text{H}} = 6.89$ ppm, d, $J = 8.7$ Hz).
- aux protons des 2 méthyles du rhamnose ($\delta_{\text{H}} = 1.02$ ppm, d, $J = 6.2$ Hz et $\delta_{\text{H}} = 1.12$ ppm, d, $J = 6.2$ Hz).

- l'un des protons anomériques du rhamnose $\delta_H = 4.52$ ppm.
- un doublet à $\delta_H = 5.60$ ppm ($J = 7.6$ Hz) d'un proton anomérique.

Les carbones résonnants à 78.5, 77.5, 70.7, 75.7, 66.8 ppm et les protons respectifs qui leurs sont attachés, sont visualisés par de petites taches de corrélation relatifs au produit minoritaire **P**₆ à l'aide du spectre HSQC (**figure 44**). Ces déplacements chimiques du carbone sont caractéristiques d'un glucose disubstitué en position 2 et 6.

L'analyse des spectres de RMN ¹H, RMN ¹³C *J*-modulé, COSY, HSQC, HMBC et TOCSY de ce composé indique que c'est le : 3-*O*-(2, 6-di-*O*- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl) kaempférol. Il a été isolé à partir des parties aériennes de l'espèce *Astragalus armatus* Willd. [253] (**figure 53**).

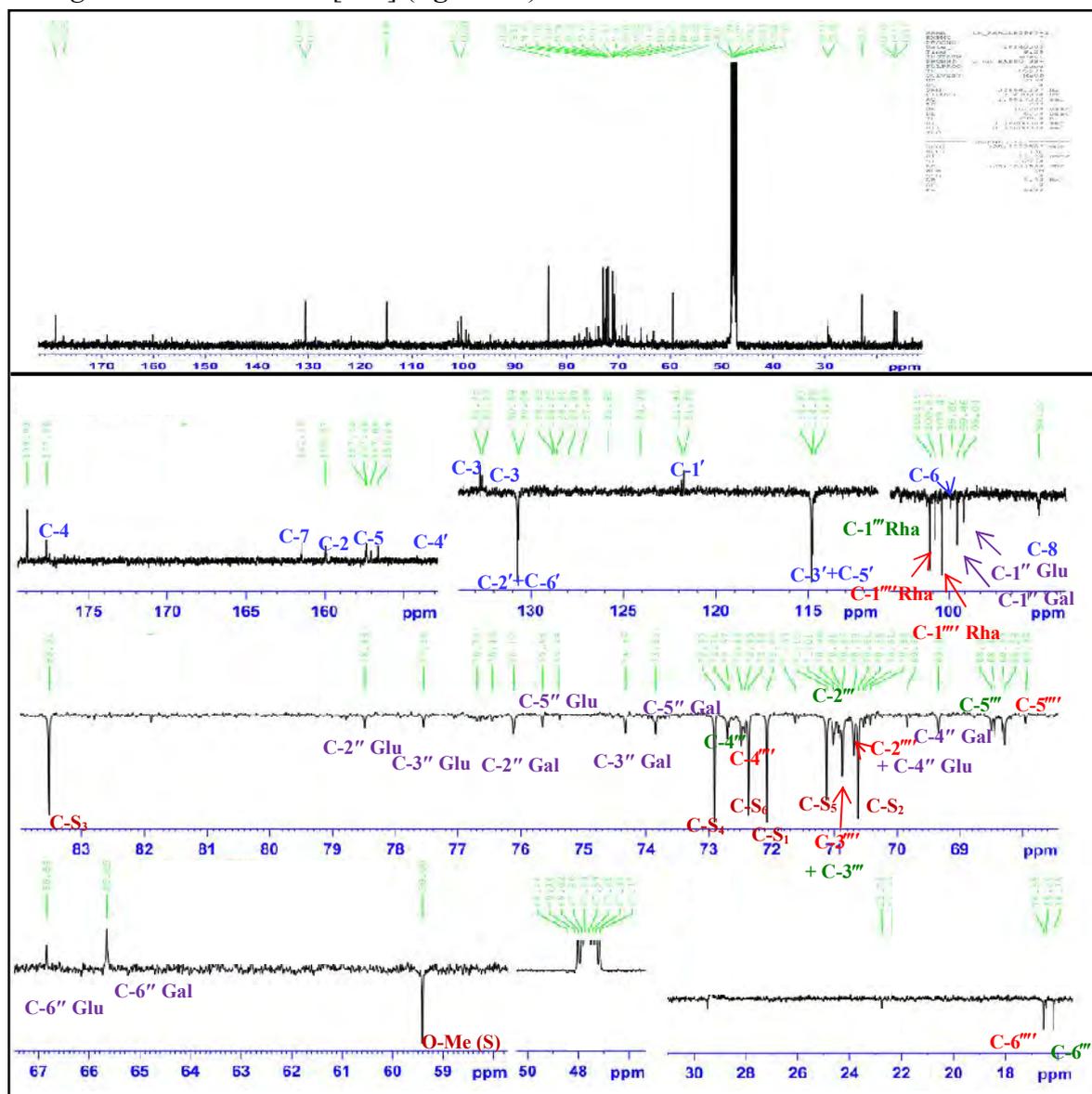


Figure 43: Spectre de RMN ¹³C *J*-modulé de composés **P**₄, **P**₅ et **P**₆ (CD₃OD, 150 MHz)

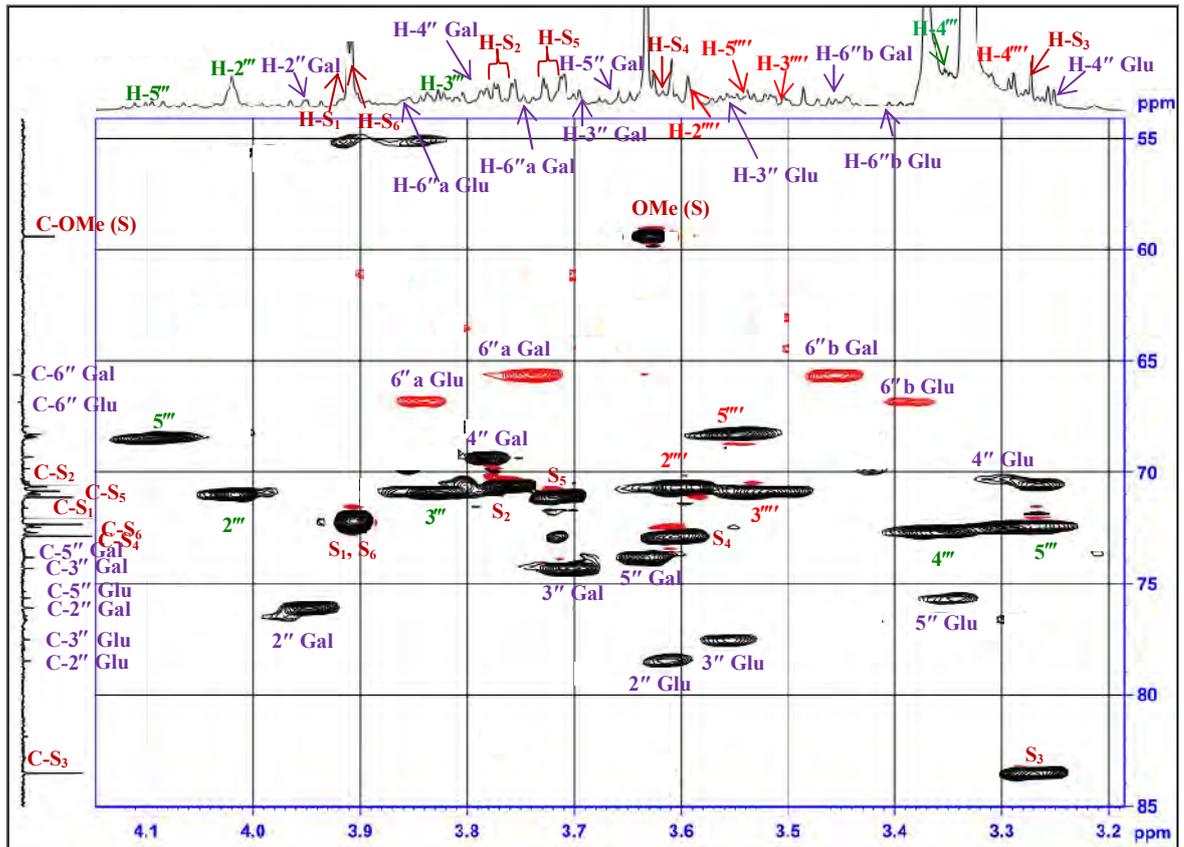


Figure 44 : Spectre de HSQC des composés P₄, P₅ et P₆

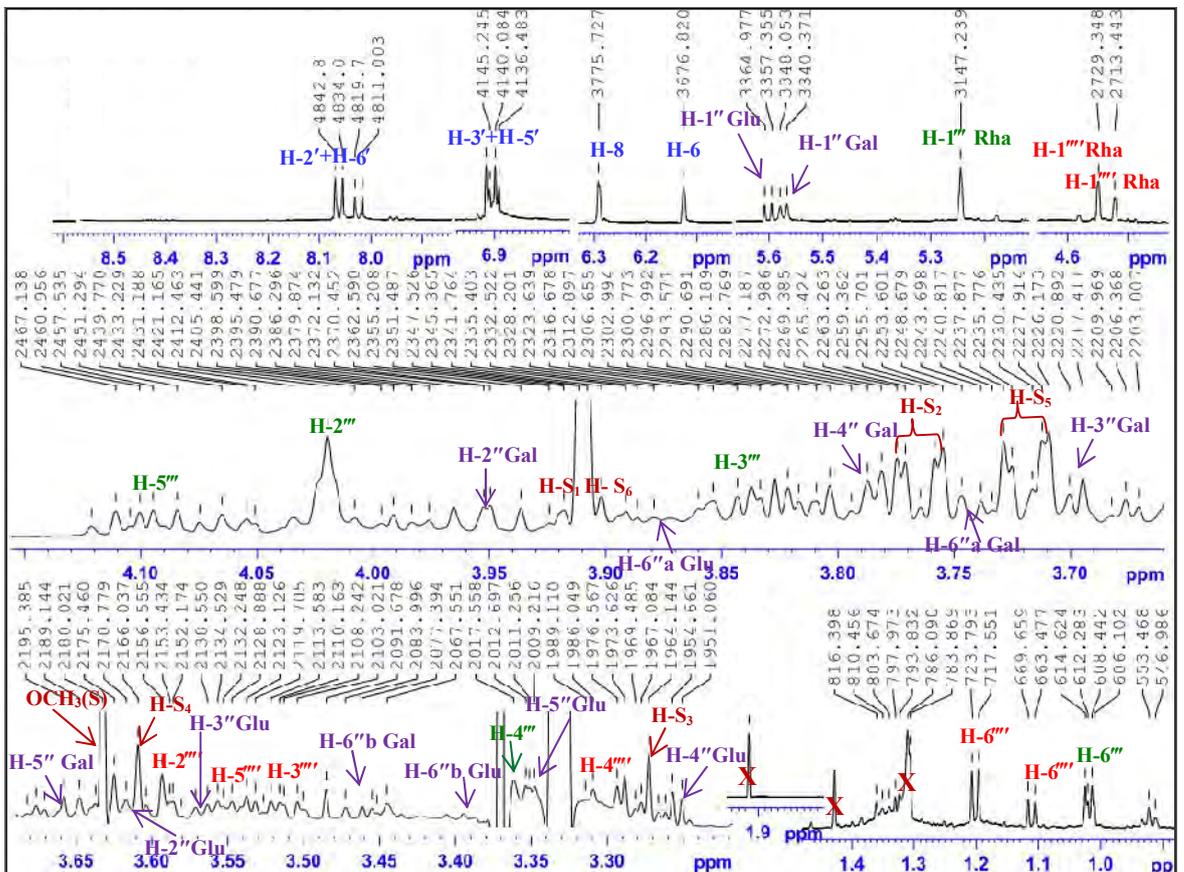


Figure 45: Spectre de RMN ¹³H de composés P₄, P₅ et P₆ (CD₃OD, 600 MHz)

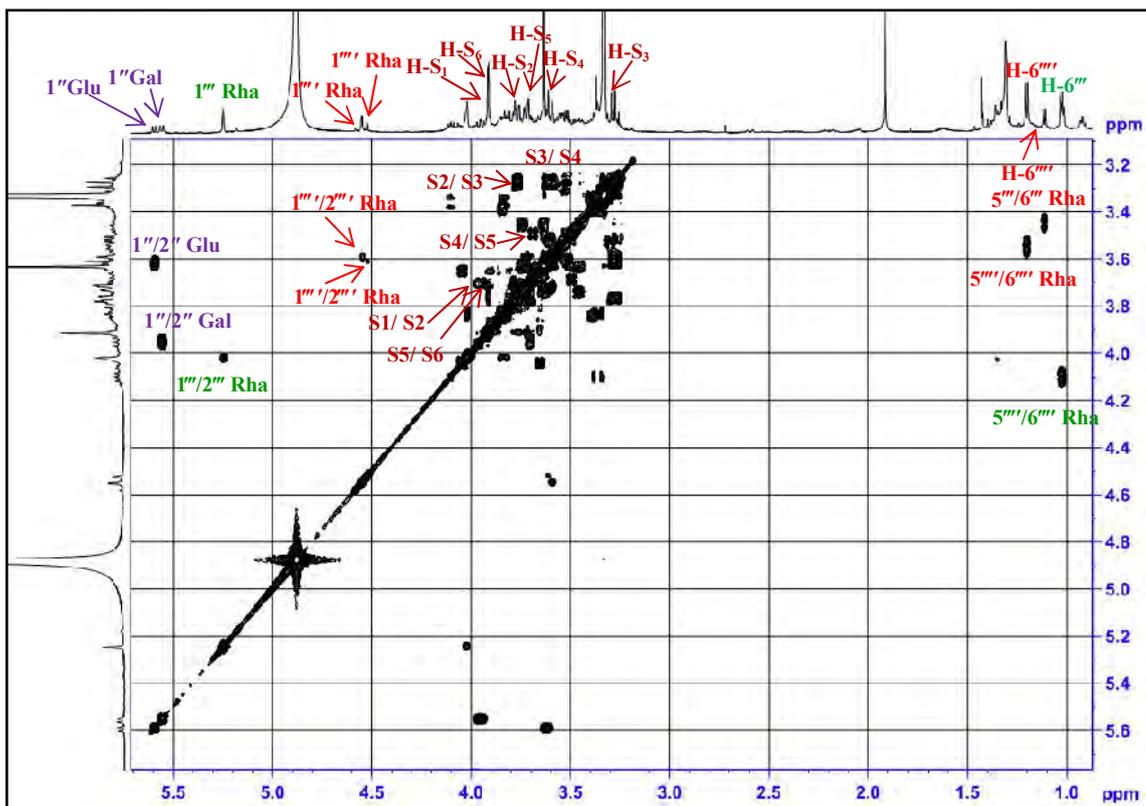


Figure 46: Spectre de COSY de composés P₄, P₅ et P₆

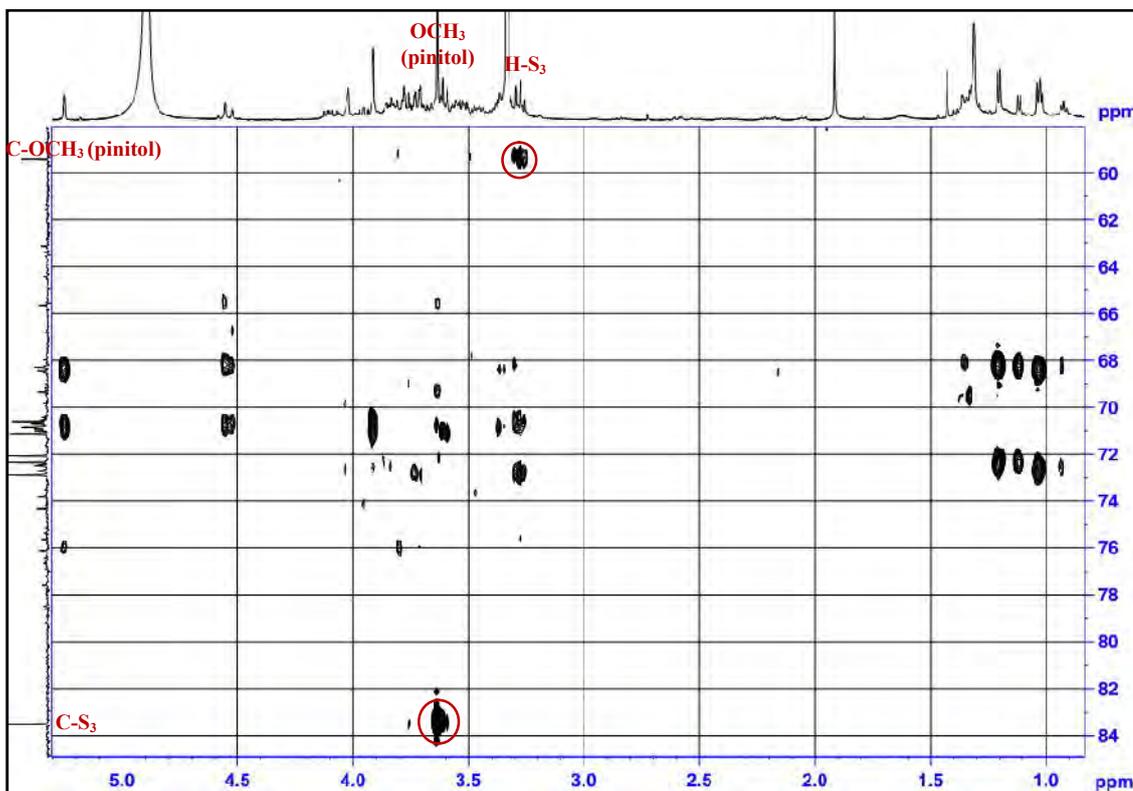


Figure 47: Spectre HMBC de composés P₄, P₅ et P₆ (entre 59 et 84 ppm)

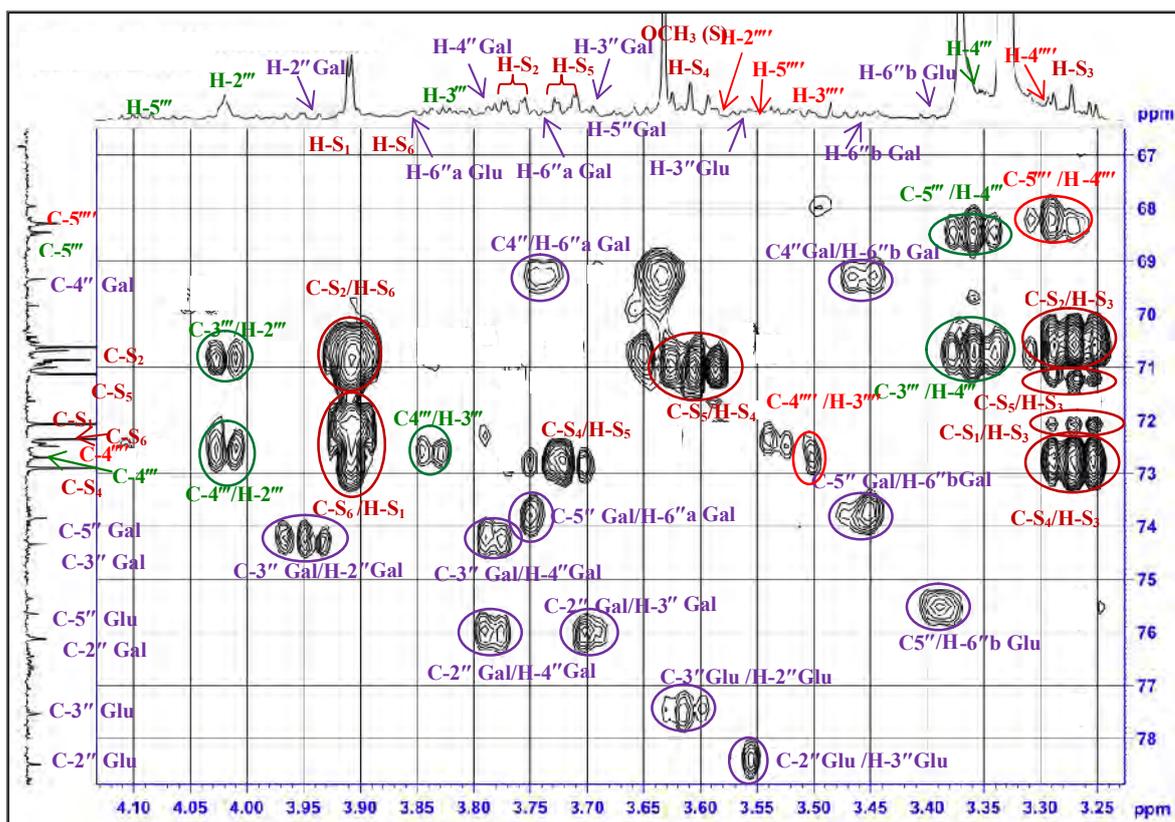


Figure 48: Spectre HMBC des composés P_4 , P_5 et P_6 (entre 67 et 78 ppm)

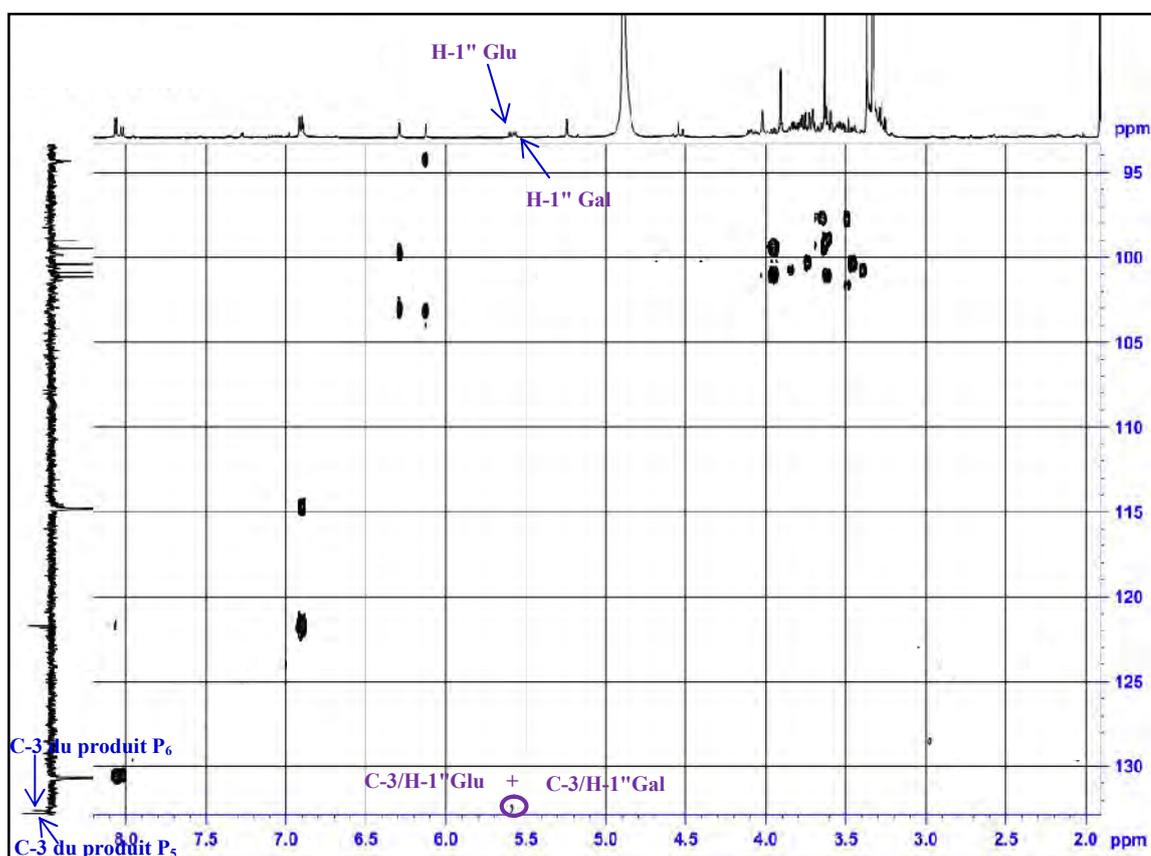


Figure 49: Spectre HMBC de composés P_4 , P_5 et P_6 (entre 95 et 130 ppm)

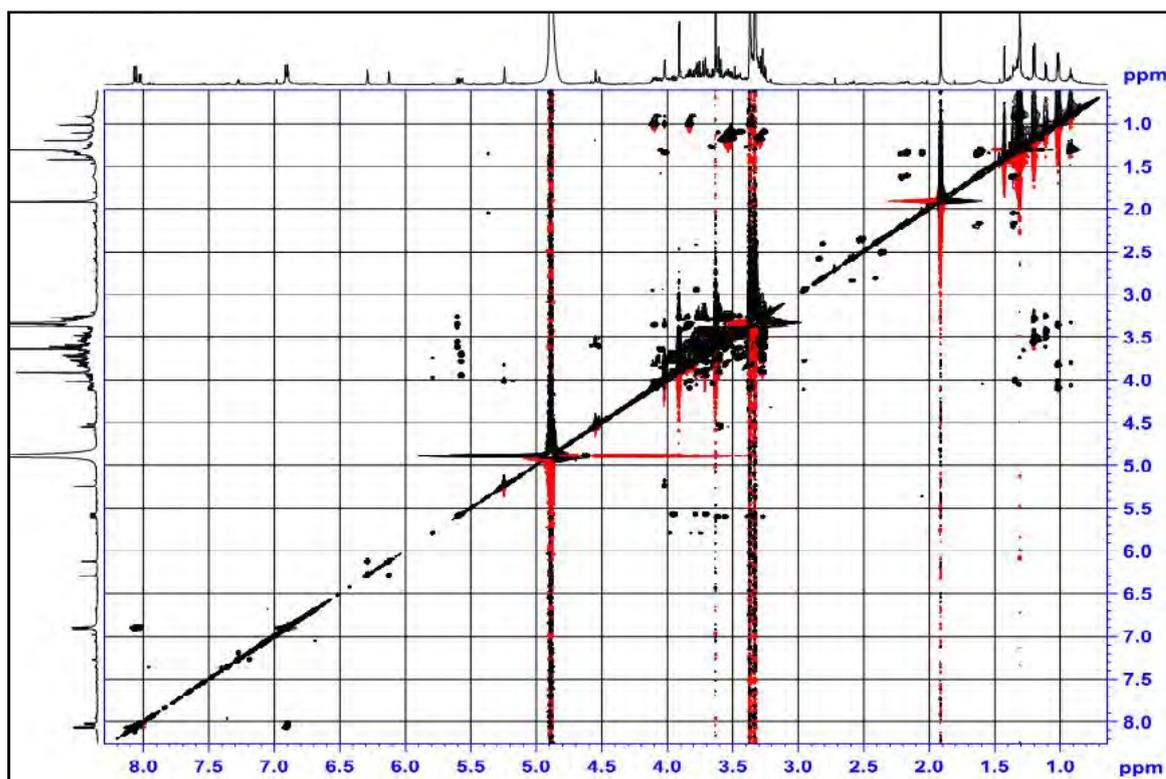


Figure 50: Spectre TOCSY de composés P_4 , P_5 et P_6

Tableau 15: Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du composé P_4 dans CD_3OD .

P_4		
N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
S ₁	72.1	m, 3.91 (2.1)
S ₂	70.6	dd, 3.76 (9.7, 2.1)
S ₃	83.5	t, 3.27 (9.5)
S ₄	72.9	t, 3.61 (9.5)
S ₅	71.1	dd, 3.72 (9.6, 2.1)
S ₆	72.4	m, 3.91 (2.1)
OMe	59.4	s, 3.63

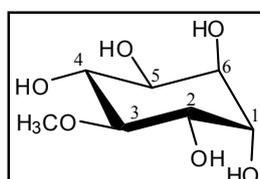


Figure 51 : Structure du composé P_4

Tableau 16 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) de composés **P₅** et **P₆** dans CD₃OD.

P₅			P₆		
N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)	N°	δ_{C}	δ_{H} (m, J Hz)
2	160	-	2	160	-
3	132.8	-	3	132.6	-
4	177.7	-	4	177.7	-
5	157.3	-	5	157.3	-
6	99.9	dl 6.12	6	99.9	dl 6.12
7	161.5	-	7	161.5	-
8	94.3	dl 6.29	8	94.3	dl 6.29
9	157.4	-	9	157.4	-
10	103.5	-	10	103.5	-
1'	121.7	-	1'	121.8	-
2'	130.7	d 8.06 (8.4)	2'	130.7	d 8.02 (8.7)
3'	114.8	d 6.90 (8.7)	3'	114.8	d 6.89 (8.7)
4'	156.6	-	4'	156.6	-
5'	114.8	d 6.90 (8.7)	5'	114.8	d 6.89 (8.7)
6'	130.7	d 8.06 (8.4)	6'	130.7	d 8.02 (8.7)
β -D-galactose (en C-3)			β -D-glucose (en C-3)		
1''	99.5	d 5.57 (7.7)	1''	99.0	d 5.60 (7.6)
2''	76.2	dd 3.95 (9.5, 7.7)	2''	78.5	m 3.61
3''	74.3	m 3.69	3''	77.5	m 3.56
4''	69.3	m 3.78	4''	70.7	m 3.26
5''	73.9	d 3.65 (6.2)	5''	75.7	m 3.35
6''a	65.7	m 3.74	6''a	66.8	m 3.88
6''b	65.7	m 3.45	6''b	66.8	m 3.40
α -L-rhamnose (en C-2'' du galactose)			α -L-rhamnose (en C-2'' du glucose)		
1'''	101.2	sl 5.24	1'''	101.2	sl 5.24
2'''	71.0	m 4.02	2'''	71.0	m 4.02
3'''	70.9	m 3.84	3'''	70.9	m 3.84
4'''	72.7	m 3.36	4'''	72.7	m 3.35
5'''	68.4	dd 4.10 (9.6, 6.2)	5'''	68.5	m 3.44
6'''	16.2	d 1.02 (6.2)	6'''	16.2	d 1.02 (6.2)
α -L-rhamnose (en C-6'' du galactose)			α -L-rhamnose (en C-6'' du glucose)		
1''''	100.4	sl 4.54	1''''	100.9	sl 4.52
2''''	70.7	m 3.59	2''''	70.7	m 3.59
3''''	70.9	m 3.52	3''''	70.9	m 3.52
4''''	72.5	m 3.29	4''''	72.4	m 3.29
5''''	68.3	m 3.55	5''''	68.3	m 3.55
6''''	16.6	d 1.20 (6.2)	6''''	16.4	d 1.12 (6.2)

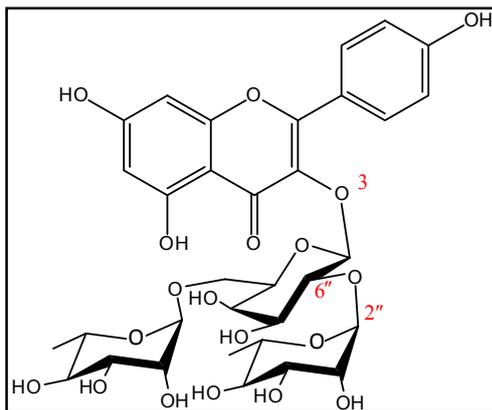


Figure 52: Structure du composé P_5

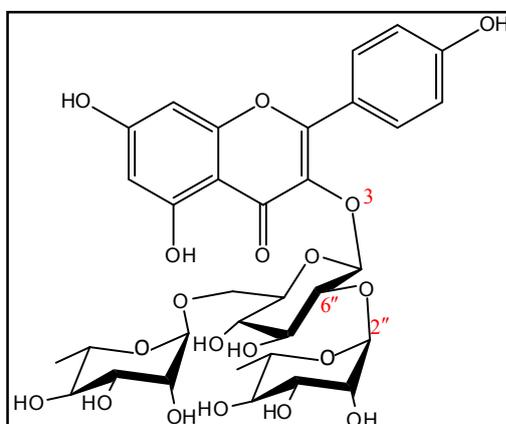


Figure 53: Structure du composé P_6

CHAPITRE II:
Activités biologiques

II.1. Activité antioxydante

Les résultats de l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de la fraction AcOEt (FAAA) et de la fraction butanolique (FBAA) de l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. par quatre méthodes : l'ABTS, le DPPH, le CUPRAC et le métal chélate sont regroupés dans le **tableau 17**.

Dans l'essai de l'ABTS, la fraction AcOEt ($CI_{50} = 11.30 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$) a montré une activité plus élevée que la fraction butanolique ($CI_{50} = 90.55 \pm 0.74$). Dans les mêmes conditions, les standards le BHA et le α -tocophérol ont montré des valeurs de $CI_{50} = 4.10 \pm 0.06$ et $4.31 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

Dans le test du DPPH, la fraction AcOEt ($CI_{50} = 67.90 \pm 0.57 \mu\text{g/mL}$), a également démontré une meilleure activité que la fraction butanolique. ($CI_{50} = 80.37 \pm 0.81 \mu\text{g/mL}$). Cependant ces valeurs sont nettement supérieures à la fraction éthanolique de celle de l'espèce *Astragalus complanatus* qui a montré une très faible activité de piégeage des radicaux DPPH avec une $CI_{50} = 419.1 \pm 0.30 \mu\text{g/mL}$ [364], et proche à celle de la fraction *n*-hexane de feuilles d'*Astragalus compactus* à l'étape de fructification qui a présenté une activité antioxydante modérée avec une $CI_{50} = 75.0 \pm 3.07 \mu\text{g/mL}$ [365].

Le dosage du CUPRAC est basé sur la mesure de l'absorbance à 450 nm, après la formation d'un complexe stable entre les ions néocuproïne et le cuivre (I). Ce complexe est produit par la réduction des ions du cuivre (II) par les antioxydants. L'antioxydant puissant présente l'absorbance la plus élevée. Par conséquent, les valeurs de $A_{0.5}$ correspondant à la concentration de 0.50 d'absorbance ont été calculées pour comparer les données de cette activité. La fraction AcOEt ($A_{0.5} = 50.6 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$) présentait également une meilleure réduction de l'activité antioxydante comparativement avec celle de la fraction butanolique ($A_{0.5} > 200 \mu\text{g/mL}$). Dans les mêmes conditions le α -tocophérol, le BHA démontrent des valeurs de $A_{0.5} = 25.5 \pm 0.0$ et $10.9 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$ (**tableau 17**).

Les deux fractions ont également été testées pour leur activité de chélation du métal. Cependant, seulement la fraction AcOEt a montré une faible activité indiquant $17.4 \pm 0.3\%$ à $100 \mu\text{g/mL}$, alors que la fraction butanolique était inactive (**tableau 17**).

L'activité antioxydante des flavonoïdes dépend de [366, 367]:

- ✓ La présence de la double liaison C_2-C_3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- ✓ La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C_2-C_3 .

- ✓ Du nombre et de la position des groupes hydroxylés.
- ✓ La présence d'un groupement catéchol sur le cycle B (ortho-dihydroxy).
- ✓ Glycosylation ou non des flavonoïdes.

L'activité antioxydante de la fraction AcOEt supérieure à celle de la fraction butanolique, cela est probablement due à la richesse de la fraction AcOEt en flavonoïdes aglycones comme l'isorhamnetine isolé, en effet il possède les deux premiers critères qui influent sur la qualité de l'activité antioxydante, Quant à la fraction butanolique, elle contient des flavonoïdes glycosylés en position 3, réduisant d'une façon notable l'activité antioxydante.

Tableau 17: Activité antioxydante d'*A. armatus* par les tests DPPH, ABTS, CUPRAC, et métal chélaté

Fractions et standards	activité antioxydante			
	Test du DPPH	Test d'ABTS	Test du CUPRAC	Test du métal chélaté
	CI ₅₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	A _{0.50} (µg/mL)	% Inhibition à 100 µg/mL
FAAA	67.90±0.57	11.30±0.09	50.60±0.9	17.4±0.3
FBAA	80.37±0.81	90.58±0.74	>200	NA
α-tocopherol^b	7.31±0.17	4.31±0.10	25.50±0.0	NT
BHA^b	45.37±0.47	4.10±0.06	10.9±0.1	NT
EDTA^b	NT	NT	NT	96.3±0.1

^a Les valeurs du CI₅₀ et A_{0.50} représentent les moyennes ± SEM de trois mesures parallèles ($p < 0.05$).

^b Composés de référence; BHA: Butylhydroxyl anisole; EDTA: Acide ethylenediaminetetraacétique.

NT: non testé; NA: non actif.

II.2. Activité antibactérienne

D'après les travaux antérieurs sur ce genre, l'activité antibactérienne a été étudiée en utilisant des extraits de certaines espèces d'*Astragalus* telles que: *A. siculus* [368], *A. gummifer* [369], *A. membranaceus* [370], *A. melanophrurius* [371] et *A. verrucosus* [372]. Ces espèces ont montré un effet antibactérien modéré vis-à-vis des souches à Gram-positif et à Gram-négatif testées.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne des trois fractions d'*A. armatus* (FCAA, FAAA et FBAA) par la méthode de diffusion sur disque. Les fractions testées ont inhibées la croissance des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La fraction chloroformique a permis d'obtenir des valeurs importantes de diamètre d'inhibition pour les souches de référence, la cocci Gram (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 avec une zone d'inhibition de 17 mm et les bacilles Gram (-) : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 avec une inhibition modérée de 15 mm (**figure 54**) et un effet inhibiteur prometteur vis-à-vis des autres souches.

Par ailleurs, la fraction AcOEt a présenté une activité antibactérienne modérée vis-à-vis de *Morganella morganii* (12 mm), *Enterobacter aerogenes* (10 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (10 mm).

La fraction *n*-butanolique inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 avec une zone d'inhibition de 14 mm. Cependant elle n'exerce aucun effet vis-à-vis de deux souches bactériennes *P. aeruginosa* (ATCC, SH).

Contrairement à nos résultats de l'activité antibactérienne Ucar Turker et al. [373] ont montrés que les 8 souches bactérienne testées (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) (bactéries à Gram positif) et *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Serratia marcescens* (ATCC 8100), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315), *Enterobacter cloacae* (ATCC 23355) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883)), (bactéries à Gram négatif) ont présentées une forte résistance vis-à-vis des extraits éthanoliques et méthanoliques de l'espèce *Astragalus brachypterus*, tandis que ces fractions montrent un effet inhibiteur prometteur vis-à-vis de *Streptococcus pyogenes* avec des zones d'inhibition de 17 mm (extrait méthanolique) et de 16.3 mm (extrait éthanolique).

Les résultats de l'activité antibactérienne des trois fractions d' *A.armatus*, sont regroupés dans le **tableau 18**.

Tableau 18: Zones d'inhibition générées par trois fractions d' *A.armatus* sur plusieurs bactéries Gram négatives et Gram positives

Microorganismes	Zone d'inhibition (mm)				
	Antibiotiques (10 µg /mL)		Fractions (1280 µg /mL)		
	Ampi ^a	Genta ^a	FCAA	FAAA	FBAA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^b	18	22	15	7	9
<i>Escherichia coli</i> ^c	-	-	11	<6	7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^b	30	-	17	7	14
<i>Staphylococcus aureus</i> ^c	-	13	13	<6	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b	-	-	15	10	<6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^c	-	12	11	<6	<6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^c	14	21	12	10	11
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^c	-	-	14	<6	10
<i>Morganella morganii</i> ^c	-	-	13	12	7

FCAA : Fractions chloroformique d'*Astragalus armatus*, FCAA : Fraction AcOEt d'*Astragalus armatus*, FCAA : Fraction butanolique d'*Astragalus armatus* ^a Contrôle: ampicilline et gentamicine, ^b Provenance de l'institut de Pasteur (Alger), ^c cliniquement isolées de laboratoire de bactériologie (CHU Constantine, Algérie).

Ces valeurs des zones d'inhibition nous ont encouragées de procéder à la détermination de la CMI dont les valeurs ont varié entre 80 et 640 µg/mL (**tableau 19**). La meilleure CMI a été constaté pour la fraction chloroformique vis-à-vis des trois souches de références testées à une concentration de 80 µg/mL.

Nos valeurs de CMI sont plus importantes que celles de l'espèce *Astragalus adsurgens*, dont l'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis de 5 souches bactériennes *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Erwinia carotovora* et *Bacillus subtilis*. Avec des CMI de l'ordre de 5000 µg/mL pour la fraction apolaire (éther de pétrole), de l'ordre de 2500 µg/mL pour la fraction butanolique et de l'ordre de 155 à 625 µg/mL pour la fraction AcOEt [374].

Tableau 19: Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{g/mL}$) des fractions d'*A. armatus*

Microorganismes	CMI ^a ($\mu\text{g/mL}$)				
	Antibiotiques (10 $\mu\text{g/mL}$)		Fractions (1280 $\mu\text{g/mL}$)		
	Ampi ^a	Genta ^a	FCAA	FAAA	FBAA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^b	10	10	80	640	320
<i>Escherichia coli</i> ^c	-	-	160	640	640
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^b	5	-	80	640	160
<i>Staphylococcus aureus</i> ^c	-	10	160	640	320
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b	-	-	80	320	640
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^c	-	5	160	640	640
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^c	-	-	160	320	320
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^c	10	5	160	640	320
<i>Morganella morganii</i> ^c	-	-	160	160	640

FCAA : Fractions chloroformique d'*Astragalus armatus*, FCAA : Fraction AcOEt d'*Astragalus armatus*, FCAA : Fraction butanolique d'*Astragalus armatus*, CMI : concentration minimale inhibitrice, ^a Contrôle: ampicilline et gentamicine, ^b Provenance de l'institut de Pasteur (Alger), ^c cliniquement isolées de laboratoire de bactériologie (CHU Constantine, Algérie).

**Figure 54 :** Zones d'inhibition de la fraction chloroformique vis-à-vis des souches de références

II.3. Activité immunomodulatrice

L'activité immunomodulatrice a également été évaluée pour certaines espèces d'*Astragalus*: *A. gypsicolus* [375], *A. membranaceus* [376], *A. verus* [377].

Dans une étude antérieure l'extrait aqueux de l'espèce *A. membranaceus* a été signalé pour atténuer l'immunosuppression induite par le méthotrexate [276], et l'extrait éthanolique de cette même espèce a régulé la différenciation des cellules murines CD4T (en sous-ensembles Th1 et Th2) [277]. Astraverrucine IV (**22**) et cycloaraloside D (**27**), isolés à partir de l'espèce *Astragalus peregrinus*, ont favorisé la prolifération des splénocytes de souris, avec une faible cytotoxicité [102]. Toutes ces données bibliographiques nous ont encouragés à investiguer l'activité immunomodulatrice de la fraction polaire butanolique d'*A. armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire.

L'activité phagocytaire de la fraction butanolique de l'espèce *Astragalus armatus* (FBAA) a été évaluée en utilisant le test *in vivo* du taux de dégagement du carbone. Les concentrations utilisées de la FBAA sont 50 mg/kg, 70 mg/kg et 100 mg/kg pour les groupes II, III et IV respectivement.

Tableau 20: Effet de la FBAA sur l'activité phagocytaire et sur le taux de dégagement du carbone.

Groupes traités	Dose	Indice phagocytaire K	Moyenne d'indice phagocytaire K	Taux de dégagement du carbone ($t_{1/2}$, min)	Moyenne du taux de dégagement du carbone ($t_{1/2}$, min)
Groupe I (contrôle)	0.5 mL	0.027	0.039 ± 0.0083 ^{b) c)}	25.66 ^{b) a)}	19.35 ± 3.77 ^{b) d)}
		0.035		19.8	
		0.055		12.6	
Groupe II	50 mg/kg	0.073	0.074 ± 0.010 ^{b)}	9.49	9.67 ± 1.8 ^{b)}
		0.057		12.15	
		0.094		7.37	
Groupe III	70 mg/kg	0.068	0.117 ± 0.025 ^{b)}	10.19 ^{b) a)}	6.69 ^{b) d)} ± 1.77
		0.155		4.49	
		0.128		5.41	
Groupe IV	100 mg/kg	0.152	0.180 ± 0.013 ^{b) c)}	5.77 ^{b) a)}	4.10 ± 1.5 ^{b)}
		0.183		4.13	
		0.205		2.4	

La **figure 55** montre que l'indice phagocytaire (K) a considérablement augmenté pour les GII, GIII et GIV (0.074, 0.117 et 0.180 respectivement).

L'indice phagocytaire indique que la FBAA a amélioré l'activité phagocytaire en stimulant le système réticulo-endothélial d'une manière dépendante de la dose injectée.



Figure 55 : Effet de la FBAA sur l'activité phagocytaire

Le système réticulo-endothélial désigne la compensation des substances particulières, tels que les bactéries et les matériaux endogènes modifiés (les agrégats de fibrine). La phagocytose élimine les micro-organismes, les corps étrangers, les cellules mortes ou blessées. La mesure de l'activité du système réticulo-endothélial dépend de l'estimation de la vitesse de clairance du sang des matières étrangères, telles que les carbones colloïdals [378]. Le traitement des groupes II, III et IV par la FBAA a amélioré la vitesse de clairance de carbone dans le sang entre les différents groupes testés, lorsque $p = 0.05$. Cela reflète à l'amélioration de l'activité phagocytaire des macrophages et de l'immunité non spécifique, qui comprend l'opsonisation de la matière particulaire étrangère avec des anticorps et de complément C3b, conduisant à un dégagement plus rapide de la matière étrangère du sang [379]. La FBAA est apparue pour stimuler l'activité phagocytaire en augmentant le taux de dégagement de carbone par les cellules du système réticulo-endothelium grâce à sa richesse en saponines [102, 380] (**figure 56**).

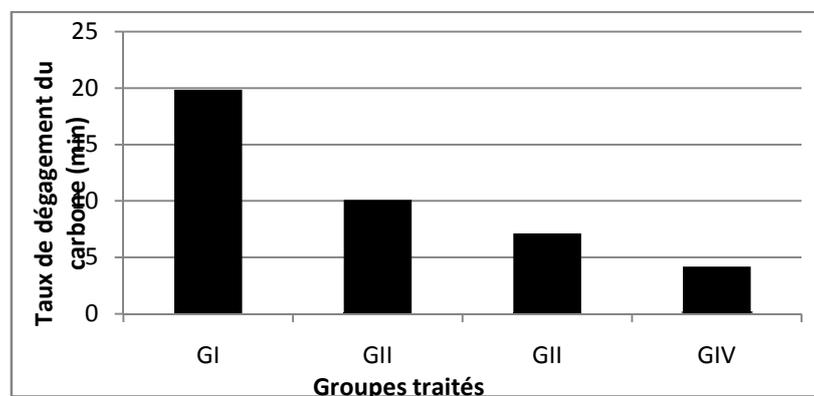


Figure 56: Effet de la FBAA sur le taux de dégagement du carbone

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce travail avait pour but d'investiguer chimiquement l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. qui fait partie de la famille des Fabacées, très répandue dans le monde végétal et d'évaluer l'activité biologique de ses fractions.

L'étude phytochimique menée sur les gousses de cette espèce a permis l'obtention de six produits (4 flavonoïdes, une saponine et un cyclitol).

- Isorhamnetine (nouveau pour l'espèce)
- Isorhamnetin-3-*O*- β -robinobioside (nouveau pour l'espèce)
- Mauritianine
- 3-*O*-(2, 6-di-*O*- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosyl) kaempférol
- Cyclomacroside D (nouveau pour l'espèce)
- D (+) pinitol (nouveau pour l'espèce)

L'isolement de ces composés a été réalisé à l'aide de méthodes chromatographiques qui sont la chromatographie sur colonne en utilisant différents éluants et parfois suivie par la chromatographie sur couche mince et l'élucidation des structures a été réalisée grâce à des moyens spectroscopiques à savoir la spectroscopie UV-Visible et la spectrométrie RMN à une et à deux dimensions (COSY, HSQC, HMBC et TOCSY) et par comparaison avec les données de la littérature.

Dans l'investigation biologique, nous avons pu mettre en évidence l'activité antibactérienne de trois fractions (les fractions chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique) par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de 9 souches bactériennes. La fraction chloroformique a montré une bonne activité vis-à-vis des souches de références, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des zones d'inhibition respectives de 17 mm, 15 mm et 15 mm, et une CMI vis-à-vis de ces trois souches de 80 μ g/mL.

L'évaluation de l'activité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique a été faite par quatre méthodes (l'ABTS, le DPPH, le CUPRAC et le métal chélate). Seulement la fraction acétate d'éthyle a manifesté une activité antioxydante modérée.

L'évaluation de l'activité immunomodulatrice de la fraction butanolique par la méthode de Biozzi a révélé que cette fraction a amélioré l'activité phagocytaire en stimulant le système réticulo-endothélial d'une manière dépendante de la dose injectée.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Quezel, P. and Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.
2. Wojciechowski, M. F., Lavin, M. and Sanderson, M. J. (2004). A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family. American Journal of Botany, 11, 1846-2004.
3. Polunin, O. and Huxley, A. (1967). Fleurs du bassin méditerranéen, Fernand Nathan, 119.
4. Graham, P. and Vance, C. (2003). Legumes: importance and constraints to greater use Plant Physiol, 131, p872-877
5. Heywood, V. H. (1996). Flowering plants of the world 3th edition, Oxford University Press, Oxford, pp. 141-145, 149-152.
6. Maxted, N. and Bennett, S. J. (2001). Conservation, diversity and use of mediterranean legumes. plant genetic resources of legumes in the mediterranean. PO Box 17, 3300 AA Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publication. 39, 1-32.
7. Ferchichi, A. (2006). Workshop International « diversité des fabaceae fourragères et de leurs symbiotes » -Alger- Academic Publication. 39, 51-75.
8. Maxted, N. and Bennett, S. J. (2001). Legume diversity in the mediterranean region. Plant genetic resources of legumes in the mediterranean. PO Box 17, 3300 AA Dordrecht, Netherlands, kluwer academic publication. 39, 51-75.
9. Wikipédia. *Mimosa pudica* [Consulté le 14 /11/2015]. Disponible à partir de: https://en.wikipedia.org/wiki/Mimosa_pudica
10. Wikipédia. *Caesalpinia bonduc* [Consulté le 14/11/2015]. Disponible à partir de: https://fr.wikipedia.org/wiki/Caesalpinia_bonduc
11. Wikipédia. *Onobrychis viciifolia* [Consulté le 14 /11/2015]. Disponible à partir de: https://en.wikipedia.org/wiki/Onobrychis_viciifolia
12. Chen, W., Wang, E., Wang, S., Li, Y., Chen, X. and Li, Y. (1995). Characteristics of *Rhizobium trianshanense* sp. nov. a moderately and slowly growing root nodule bacterium isolated from an arid saline environment in Xinjiang, people's republic of china. International Journal of Systematic Bacteriology, 45, 153-159.
13. Pant, M.C., Uddin, I., Bhardwaj, U.R. and Tewari, R.D. (1968). Blood sugar and total cholesterol lowering effects of *Glycine soja*, *Mucuna pruriens* and *dolichos biflorus* seed diets in normal fasting albino rats. Indian Journal of Medical Research, 56, 12.

14. Baoux, H., Fany, J. and Bessi re, J. M. (1976). Essais phytochimiques préliminaires sur quelques plantes médicinales du Niger plantes m d. et phytoth rapie, Tome X N 4, p 251-256.
15. Arnone, A., Camarda, L., Merlini, L., Nasini, G. and Taylor, D. A. H. (1977). Colouring matters of the West Africa red woods *Pterocarpus osun* and *P. santalinus*. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 19, 2116-2118.
16. B zanger-beauquesne, L., Pinkas, M. and Torck, M. (1986). Les plantes dans la thérapeutique moderne. Editeur Maloine, p 469.
17. Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara, 3 me édition, Ed. CNRS, Paris, France.
18. Yal ın, F. N., Piacente, S., Perrone, A., Capasso, A., Duman, H. and  alı, I. (2012). Cycloartane glycosides from *Astragalus stereocalyx* Bornm. Phytochemistry, 73, 119-126.
19. James, L. F., Hartely, W. J. and Van Kampen, K. R. (1981). Syndromes of *Astragalus* poisoning in livestock. Journal of the American Veterinary Medical Association, 178, 146.
20. Wikipédia. *Astragalus glycyphyllos* [Consulté le 12 /05/2015]. Disponible   partir de: https://fr.wikipedia.org/wiki/Astragalus_glycyphyllos.
21. Maassoumi, A. A. (1998). *Astragalus* in the old world. Research Institute of Forests and Rangelands, Teheran, Iran.
22. Wojciechowski, M. F., Sanderson, M. J. and Hu, J.-M. (1999). Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA *trnL* intron data. Systematic Botany, 24, 409-437.
23. Podlech, D. (2008). The genus *Astragalus* L. (Fabaceae) in Europe with exclusion of the former Soviet Union. Feddes Repertorium, 119, 310-387.
24. Raynaud, C. (1982). Eléments pour une flore pratique du Maroc, légumineuses, tribu des galegea. Ecole Nationale Forestière des Ingénieurs. Salé. Maroc.
25. Johandiez, E. and Maire, R. (1932). Catalogue des plantes du Maroc Tome 2. Imprimerie Minerva Alger, p 406.
26. Lock, M. and Schrire, B. D. (2005). Galegeae. In: Lewis, G. P., Mackinder, B. A., Lock, M. (eds.), Legumes of the world, Royal Botanic Gardens, Kew, India.
27. Podlech, D. (1986). Taxonomic and phytogeographical problems in *Astragalus* of old and south west Asia. Proceeding of the Royal Society, Edinburgh, 89, 37-43.
28. Hirche, A., Salamani, M., Abdellaoui, A., Benhouhou, S. and Martínez Valderrama, J. (2010). Landscape changes of desertification in arid areas: the case of south-west Algeria. Environmental Monitoring and Assessment, 10, 1744.

29. Bellakhdar, J. (1997). La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle, Ibis Press, Paris, France.
30. Kherraze M. E, Lakhdari, K., Kherfi, Y., Benzaoui, T., Berroussi, S., Bouhanna, M., Sebaa, A. (2010). Atlas Floristique De La Vallée De l'Oued Righ Par Ecosystème.
31. El Rhaffari, L. and Zaid, A. (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet) : Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Des sources de savoir aux médicaments du futur, in : 4^{ème} Colloque Européen d'Ethnopharmacologie, Paris, IRD Editions, institut de Recherche pour le Développement, Société française d'ethnopharmacologie, 1, 293-318.
32. Iserin, P. (2001): Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} Ed. Larousse. Londres, p 336.
33. James, L. F. and Shupe, J. L. (1986). Selenium accumulators. In current Veterinary Therapy, Food animal practice 2 (Edited by Howard J. L.). Philadelphia, USA, WB Saunders, p394.
34. James, L. F., Van Kampen, K. R. and Hartley, W. J. (1983). *Astragalus bisulcatus* : a cause of selenium or Locoweed poisoning. Veterinary and Human Toxicology, 25, 86- 89.
35. Williams, M.C. and Barneby, R.C. (1977). The occurrence of nitro-toxins in North American *Astragalus* (Fabaceae). Brittonia, 29, 310-326.
36. Van Kampen, K. R. and James, L. F. (1970). Pathologie of locoweed (*Astragalus lentiginosus*) poisoning in sheep. Sequential development of cytoplasmic vacuolation in tissues. Pathologia veterinaria, 7, 503-508.
37. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie - phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Ed. Paris, Tec & Doc.
38. Avilov, S. A., Kalinovsky, A. I., Stonik, V. A., Riguera, R. and Jiménez, C. (1997). Koreaside A, a new nonholostane triterpene glycoside from the sea cucumber *Cucumaria koraiensis*. Journal of Natural Products, 60, 808-810.
39. Yoshiki, Y., Kudou, S., Okubo, K. (1998). Relation ship between chemical structures and biological activities of triterpenoid saponins from soybean. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 62, 2291-2299.
40. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales 3^{ème} ed. Tec & Doc, Paris.
41. Hostettmann, K., Marston, A. (1995). Saponins. chemistry and pharmacology of natural products: saponins. Cambridge University Press.

42. Lacaille-Dubois, M.-A. and Wagner, H. (1996). A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*, 2, 363-386.
43. Lacaille-Dubois, M.-A. and Wagner, H. (2000). Bioactive saponins from plants: an update: In Atta-Ur-Rhaman (Ed.). *Studies in Natural Product Chemistry* 21, Elsevier: Amsterdam, 633-687.
44. Lacaille-Dubois, M.-A. (2005). Bioactive saponins with Cancer related and immunomodulatory activity: recent developments. In: Attar-ur-Rahman (Ed.). *Studies in Natural Product Chemistry*, 32, Elsevier: Amsterdam, 209-246.
45. Wachter, G. A., Valcic, S., Franzblau, S. G., Suarez, E. and Timmermann B. N. (2001). Antitubercular activity of triterpenoids from *Lippia turbinata*. *Journal of Natural Products*, 64, 37.
46. Zhang, J., Meng, Z., Zhang, M., Ma, D., Xu, S. and Kodama, H. (1999). Effect of six steroidal saponins isolated from *Anemarrhenae rhizoma* on platelet aggregation and hemolysis in human blood. *Clinica Chimica Acta*, 289, 79.
47. Voutquenne, L., Lavaud, C., Massiot, G. and Le Men-Olivier, L. (2002). Structure-activity relationships of haernolytic saponins. *Pharmaceutical Biology*, 40, 253-262.
48. Sparg, S. G., Light, M. E. and Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 219-243.
49. Melzig, M. F., Bader, G. and Loose, R. (2001). Investigations of the mechanism of membrane activity of selected triterpenoid saponins. *Planta Medica*, 67, 43-48
50. Lee, Y. N., Lee, H. Y., Kim, S. I., Lee, S. K., Park, B. C. and Kim, K. W. (1996). *In vitro* introduction of differentiation by gensenosides in F9 Teratocarcinoma cells. *European Journal of Cancer*, 32A, 1420-1428.
51. Yui, S., Ubukata, K., Hodono, K., Kitahara, M., Mimaki, Y., Kuroda, M., Sashida, Y. and Yamasaki, M. (2001). Macrophage-oriented cytotoxic activity of novel triterpene saponins extracted from roots of *Securidaca inappendiculata*. *International Immunopharmacology*, 1, 1989-2000.
52. Gaidi, G., Correira, M., Chauffert, B., Beltramo, J.-L., Wagner, M., Lacaille-Dubois, M.-A. (2002). Saponins mediated potentiation of cisplatin accumulation and cytotoxic in human colon cells. *Planta Medica*, 68, 70-72.
53. Agrawal, P.K., Markham, K.R. (1989). Introduction in Carbon-13 NMR of flavonoids. Agrawal P.K. Ed. Elsevier. Amsterdam. pp 1-31.
54. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, 2^{ème} édition, édition Lavoisier, Paris.

55. Harborne, J.B. and Baxter, H. Eds. (1999). The handbook of natural flavonoids. Vol.1 and 2, John Wiley and Sons, Chichester.
56. Rusznyak, I. and Szent-Györgyi, A. (1936). Vitamin P: flavanols as vitamins. *Nature*, 138, 27.
57. Matsuda, H., Yano, M., Kubo, M., Linuma, M., Oyama, M. and Mizuno, M. (1991). Pharmacological study on citrus fruits. II. Anti-allergic effect of fruit of *Citrus unshiu markovich* (2). On flavonoid component. *Yakugata Zasshi*, 111, 193.
58. Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A. and Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65, 337-353.
59. Serafini, M., Peluso, I. and Raguzzini, A. (2010). Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69, 273-278.
60. Zayachkivska, O. S., Konturek, S. J., Drozdowicz, D., Konturek, P. C., Brzozowski, T. and Ghegotsky, M.R. (2005). Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56, Suppl 1, 219-231
61. Nancy, E. R., Chi-Tang, H. and Shiming, Li. (2014). Efficacious anti-cancer property of flavonoids from citrus peels. *Food Science and Human Wellness*, 3,104-109.
62. Cushnie, T.P.T. and Lamb A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
63. De Conti Lourenço, R. M., da Silva Melo, P. and Albino de Almeida A. B. (2013). Flavonoids as antifungal agents In : *Antifungal Metabolites from Plants*, Ed Springer, Berlin, 283-300.
64. Amaral, A.C.F., Kuster, R.M., Gonçalves, J. L.S. and Wigg, M.D. (1999). Antiviral investigation on the flavonoids of *Chamaesyce thymifolia*. *Fitoterapia*, 70, 293-295.
65. Andres A., Donovan S.M. and Kuhlenschmidt M.S. (2009). Soy isoflavones and virus infections. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 20, 563-569.
66. Peterson, J. and Dwyer, J. (1998). Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity and *Nutrition Research*, 18, 1995-2018.
67. Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
68. Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1, 569-590.
69. Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren, K. and Van Leeuwen, P. A. M. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 418-425.

70. Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. and Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 19, 667-766
71. Chatenet, C. (2008). Les phytoestrogènes. *Actualités pharmaceutiques*, 473, 10-23.
72. Botta, B., Menendez, P., Zappia, G., Lima, R. A. D., Torge, R. and Monache, G.D. (2009). Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. (1995-2006). *Current Medicinal Chemistry*, 16, 3414-3468.
73. Jimenez-Gonzalez, L., Alvarez-Corral, M., Munoz-Dorado, M. and Rodriguez-Garcia, I. (2008). Pterocarpanes : interesting natural products with antifungal activity and other biological properties. *Phytochemistry Reviews*, 7, 125-154.
74. Wagner, H., Wierer, M. and Bauer, R. (1986). In vitro hemmung der prostaglandinbiosynthese durch etherische Öle und phenolische verbindungen. *Planta Medica*. 184-187
75. Ong, K. C. and Khoo, H. E. (1997). Biological effects of myricetin. *General Pharmacology*, 29, 121-126.
76. Ong, K.C. and Khoo, H.E. (2000). Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sciences*, 67, 1695-1705.
77. Hodgson, J. M. (2008). Tea flavonoids and cardiovascular disease. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17 Suppl 1, 288-290.
78. Arts, I. C. W and Hollman, P. C. H. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81 (suppl), 317S-321S.
79. Gromova, A.S., Lutsky, V.I., Cannon, J.G., Li, D. and Owen, N.L. (2001). Secondary metabolites of *Astragalus danicus* Retz. and *A. inopinatus* Boriss. *Russian Chemical Bulletin*, 50, 1107.
80. Mamedova, R. P., Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (2002). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. Structure of cycloexoside B. *Chemistry of Natural Compounds*, 38, 579-582.
81. Radwan, M.M. El-Sebakhy, N.A. Asaad, A.M. Toaima, S.M. and Kingston, D.G.I. (2007). Spinocoumarin I, a new coumarin derivative from *Astragalus spinosus* Forssk *Natural Products Communications*, 2, 919-922.
82. Choudhary, M. I., Jan, S., Abbaskhan, A., Musharraf, S. G and Sattar, S. A. (2008). Cycloartane triterpenoids from *Astragalus bicuspis*. *Journal of Natural Products*, 71, 1557-1560.
83. Rao, Y. J. Reddy, C.R. Gangadhar, N and Krupadanam, G.L.D. (2009). Phytochemical investigation of the whole plant of *Astragalus leucocephalus*. *Indian Journal of Chemistry*,

48, 1329-1932.

- 84.** Fathiazad, F., Khosropanah, M. K. and Movafeghi, A. (2010). Cycloartane-type glycosides from the roots of *Astragalus caspicus* Bieb. *Natural Product Research*, 24, 1069-1078.
- 85.** Polat, E., Bedir, E., Perrone, A., Piacente, S. and Alankus-Caliskan, O. (2010). Triterpenoid saponins from *Astragalus wiedemannianus* Fischer. *Phytochemistry*, 71, 658-662.
- 86.** Zhanibekov, A.A., Naubeev, T.K., Uteniyazov, K.K., Bobakulov, Kh.M. and Abdullaev, N.D. (2013). Triterpene glycosides from *Astragalus*. Structure of cyclolehmanside C from *Astragalus lehmannianus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 475-477.
- 87.** Alaniya, M.D. and Gigoshvili, T.I. (2012). New cycloartane glycosides from *Astragalus caucasicus* and *Astragalus galegiformis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48, 914-916.
- 88.** Bedir, E., Calis, I., Aquino, R., Piacente, S and Pizza, C. (1999). Secondary metabolites from the roots of *Astragalus trojanus*. *Journal of Natural Products*, 62, 563-268
- 89.** Avunduk, S., Mitaine-Offer, A.-C., Alankuş-Caliskan, O., Miyamoto, T., Şenol, S.G. and Lacaille-Dubois, M.-A. (2008). Triterpene Glycosides from the Roots of *Astragalus flavescens*. *Journal of Natural Products*, 71, 141-145.
- 90.** Bedir, E., Tatli, I. I., Calis, I. and Khan I. A. (2001). Trojanosides I-K: new cycloartane-type glycosides from the aerial parts of *Astragalus trojanus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 49, 1482-1486.
- 91.** Tabanca, N., Bedir, E., Alankus-Caliskan, O. and Khan, I. A. (2005). Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus gilvus* Boiss. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 1067-1070.
- 92.** Verotta, L., Guerrini, M., El-Sebakhy, N.A., Assad, A.M., Toaima, S.M., Radwan, M.M., Luo, Y.D. and Pezzuto, J.M. (2002). Cycloartane and oleanane saponins from Egyptian *Astragalus* spp. as modulators of lymphocyte proliferation. *Planta Medica*, 68, 986-994.
- 93.** Calis, I., Koyunoğlu, S., Yeşilada, A., Brun, R., Ruedi, P. and Taşdemir, D. (2006). Antitrypanosomal cycloartane glycosides from *Astragalus baibutensis*. *Chemistry Biodiversity*, 3, 923-929.
- 94.** Fu, L.B and Tao, Z.Y. (2008). Cycloartane-glycosides from *Astragalus maowensis*. *Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 163-166.
- 95.** Horo, I, Bedir, E., Perrone, A., Ozgokce, F., Piacente, S. and Alankuş-Caliskan, O.

- (2010). Triterpene glycosides from *Astragalus icmadophilus*, *Phytochemistry*, 71, 956-963.
96. Linnek, J., Mitaine-Offer, A.-C., Miyamoto, T., Tanaka, C., Paululat, T., Avunduk, S., Alankuş-Caliskan, O. and Lacaille-Dubois, M.-A. (2011). Cycloartane-glycosides from three Species of *Astragalus* (Fabaceae). *Helvetica Chimica Acta*, 94, 230-237.
97. Oezipek, M., Doenmez, A. A., Calis, I., Brun, R., Ruedi, P. and Tasdemir, D. (2005). Leishmanicidal cycloartane-type triterpene glycosides from *Astragalus oleifolius*. *Phytochemistry*, 66, 1168-1173.
98. Barbic, M., Macabeo, A.P.G., Kreft, S., Heilmann, J. (2010). Cycloastragenol glycosides from *Astragalus illyricus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 460-462.
99. Naubeev, T. K., Uteniyazov, K. K., Kachala, V. V. and Shashkov, A. S. (2007). Cycloartanes from *Astragalus flexus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 360.
100. Sukhina, I. A., Mamedova, R. P., Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (2007). Triterpene glucosides of *Astragalus* and their genins. Cyclotrisectoside, the first trisdesmoside of cyclocephalogenin. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 159-161.
101. Isaev, M. I., Gorovits, M. B and Abubakirov, N. K. (1989). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XXX. Cycloaraloside A from *Astragalus amarus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 25, 684-687.
102. Verotta, L., Guerrini, M., El-Sebakhy, N., Asaad, A. M., Toaima, S.M., Abou-Sheer, M.E., Luo, Y.D. and Pezzuto, J.M. (2001). Cycloartane saponins from *Astragalus peregrinus* as modulators of lymphocyte proliferation. *Fitoterapia*, 72, 894-905.
103. Pistelli, L., Pardossi, S., Flamini, G., Bertoli, A and Manunta, A. (1997). Three cycloastragenol glucosides from *Astragalus verrucosus*. *Phytochemistry*, 45, 585 -587
104. Pistelli, L., Pardossi, S., Bertoli, A and Potenza, D. (1998). Cicloastragenol glycosides from *Astragalus verrucosus*. *Phytochemistry*, 49, 2467-2471.
105. Kucherbaev, K. D., Uteniyazov, K. K., Kachala, V. V., Saatov, Z., Shashkov, A. S., Uteniyazov, K. U. and Khalmuratov, P. (2002). Triterpene glycosides from *Astragalus*. Structure of cyclounifolioside B from *Astragalus unifoliolatus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 38, 62-65.
106. Isaev, M. I. (1992). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XLIII. Cycloaraloside B from *Astragalus amarus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 28, 461-463.
107. Pistelli, L., Giachi, I., Lepori, E., Bertoli, A. (2003). Further saponins and flavonoids from *Astragalus verrucosus* Moris. *Pharmaceutical Biology*, 41, 568.

- 108.** Isaev, M. I. (1991). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XXXIX. cycloaraloside D from *Astragalus amarus*. Chemistry of Natural Compounds, 27, 457-459.
- 109.** Isaev, M. I and Imomnazarov, B. A. (1991). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XXXVII. Cycloaraloside F from *Astragalus amarus* and *Astragalus villosissimus*. Chemistry of Natural Compounds, 27, 323-326.
- 110.** Imomnazarov, B. A and Isaev, M. I. (1992). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XLI. Cycloexoside from *Astragalus exilis*. Chemistry of Natural Compounds, 28, 312-315.
- 111.** Imomnazarov, B. A., Isaev, M. I., Saboiev, S. S and Abubakirov, N. K. (1990). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XXXII. Cyclocarposide from *Astragalus coluteocarpus*. Chemistry of Natural Compounds, 26, 555-558.
- 112.** Imomnazarov, B. A and Izaev, M. I. (1992). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XLIV. Structure of cyclocarposides A and C. Chemistry of Natural Compounds, 28, 603-607.
- 113.** Imomnazarov, B. A and Izaev, M. I. (1992). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XL. Cyclocarposide B from *Astragalus coluteocarpus*. Chemistry of Natural Compounds, 28, 195-198.
- 114.** Bedir, E., Calis, I., Aquino, R., Piacente, S and Pizza, C. (1998). Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus brachypterus* and *Astragalus microcephalus*. Journal of Natural Products, 61, 1469-1472.
- 115.** Wang, H. K., He, K., Ji, L., Tezuka, Y., Kikuchi, T and Kitagawa, I. (1989). Asernestioside C, anew minor saponin from the roots of *Astragalus ernestii* COMB. First example of negative nuclear Overhauser effect in the saponins. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 37, 2041-2046.
- 116.** Hirotani, M. (1999). Saponin production of hairy root cultures of *Astragalus membranaceus* bunge. Recent Research Developments in Phytochemistry, 3, 41.
- 117.** Iskenderov, D. A, Keneshov, B.M and Isaev, M. I. (2008). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXVI. Glycosides from *Astragalus sieversianus*. Chemistry of Natural Compounds, 44, 319-323.
- 118.** Bian, Y. Y., Guan, J. and Bi, Z. M. (2006). Studies on chemical constituents of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. Chinese Pharmaceutical Journal, 41, 1217-1221.
- 119.** Naubeev, T.K and Uteniyazov, K.K. (2007). Structure of cyclochivinoside C from *Astragalus chivensis*. Chemistry of Natural Compounds, 43, 560-562.

120. Sun, L.M., Wang, X.L., Deng, W.L., Ding, L.S and Peng, S.L. (2011). Chemical Constituents from *Astragalus ernestii*. Chinese Journal of Natural Medicines, 9, 38-41.
121. Gariboldi, P., Pelizzoni, F., Tato, M., Verotta, L., El-Sebakhy, N. A., Asaad, A. M., Abdallah, R. M. and Toaima, S. M. (1995). Cycloartane triterpene glycosides from *Astragalus trigonus*. Phytochemistry, 40, 1755-1760.
122. Semmar, N., Tomofumi, M., Mrabet, Y. and Lacaille-Dubois, M.A. (2010). Two new acylated tridesmosidic saponins from *Astragalus armatus*. Helvetica Chimica Acta, 93, 870-876.
123. Calış, İ., Dçnmez, A. A., Perrone, A., Pizza, C. and Piacente, S. (2008). Cycloartane glycosides from *Astragalus campylosema* Boiss. ssp. *campylosema*. Phytochemistry, 69, 2634-2638.
124. Kim, J. S., Yean, M. H., Lee, E. J., Jung, H. S., Lee, J. Y., Kim, Y. J. and Kang, S. S. (2008). Two new cycloartane saponins from the roots of *Astragalus membranaceus*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 56, 105-108.
125. Abdallah, R. M., Ghazy, N. M., El-Sebakhy, N. A., Pirillo, A. and Verotta, L. (1993). Astragalosides from Egyptian *Astragalus spinosus* Vahl. Pharmazie, 48, 452-454.
126. Bedir, E., Calis, I., Aquino, R., Piacente, S and Pizza, C. (1999). Trojanoside H: A cycloartane-type glycoside from the aerial parts of *Astragalus trojanus*. Phytochemistry, 51, 1017-1020.
127. Linnek, J., Mitaine-Offer, A., Miyamoto, T., Duchamp, O., Mirjolet, J and Lacaille-Dubois M. A. (2009). Cycloartane-type glycosides from two species of *Astragalus* (Fabaceae). Natural Product Communications, 4, 477-478.
128. Wang, H. K., He, K. and Lin, L. Q. (1988). Astrachryoside A from *Astragalus chrysopterus*. In abstracts of papers, 16th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (IUPAC). Kyoto, Japan 219.
129. Chu, C., Cai, H.-X., Ren, M.-T., Liu, E.-H., Li, B., Qi, L.-W. and Li, P. (2010). Characterisation of novel astragaloside malonate from Radix Astragali by HPLC with ESI quadrupole TOF-MS. Journal of Separation Science, 33, 570-581.
130. Kuang, H. X, Zhang, N., Tiang, Z. K, Zhang, P., Okada, Y. and Okuyama, T. (1997). Studies of the constituents of *Astragalus membranaceus*. II. Structures of triterpwnoidal glycosides, huangquiyenin D, from the leaves. Natural Medicines, 51, 358-360.
131. Calis, I., Gazar, H., Piacente, S. and Pizza, C. (2001). Secondary Metabolites from the roots of *Astragalus zahlbruckneri*. Journal of Natural Products, 64, 1179-1182.

- 132.** Agzamova, M. A and Isaev, M. I. (1994). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XLVIII. The structures of cycloalpigénin B and cycloalpioside B. *Chemistry of Natural Compounds*, 30, 474- 479.
- 133.** Agzamova, M. A and Isaev, M. I. (1994). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XLVII. Structures of cycloalpigénin A and cycloalpioside A. *Chemistry of Natural Compounds*, 30, 346-351
- 134.** Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (1995). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XLIX. Structures of cycloalpigénin C and cycloalpioside C. *Chemistry of Natural Compounds*, 31, 70-75
- 135.** Agzamova, M. A and Isaev, M. I. (1991). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XXXVIII. Cycloalpigénin D and cycloalpioside D from *Astragalus alopecurus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 27, 326-332.
- 136.** Ma, Y., Tian, Z., Kuang, H., Yuan, C., Shao, C., Ohtani, K., Kasai, R., Tanaka, O., Okada, Y. and Okuyama, T. (1997). Studies of the constituents of *Astragalus membraceus* Bunge. III. Structures of triterpenoidal glycosides, huangqiényens A and B, from the leaves. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 45, 359-361.
- 137.** Alaniya, M.D., Gigoshvili, T.I., Kavtaradze, N.S., Lavoï, S., Pichette, A. and Mshvildadze, V.D. (2007). Cyclocephalogenin and cyclogalegigenin from *Astragalus caucasicus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 361-362.
- 138.** Alaniya, M. D., Gigoshvili, T. I and Kavtaradze, N. Sh (2006). Cyclogaleginoside D from *Astragalus galegiformis* stems. *Chemistry of Natural Compounds*, 42, 310-312.
- 139.** Gigoshvili, T. I., Alaniya, M. D., Tsitsishvili, V. G., Foure, R., Debrauver, L. and Kemertelidze, E. P. (2003). Structure of cyclogaleginoside E from *Astragalus galegiformis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 373-378.
- 140.** Alaniya, M. D., Chkadua, N. F., Gigoshvili, T. I. and Kemertelidze, E. P. (2006). Cycloascauloside a from *Astragalus caucasicus* leaves. *Chemistry of Natural Compounds*, 42, 445-448.
- 141.** Bedir, E., Caliş, I., Dunbar, C., Sharan, R., Buolamwini, J.K. and Khan, I. A. (2001). Two novel cycloartane-type triterpene glycosides from the roots of *Astragalus prusianus*. *Tetrahedron*, 57, 5961-5966.
- 142.** Kucherbaev, K. D., Uteniyazov, K. K., Kachala, V. V., Saatov, Z. and Shashkov, A. S. (2002). Triterpene glycosides from plants of the *Astragalus* genus. Structure of cyclounifolioside C from *Astragalus unifoliolatus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 38,

447- 449.

143. Alaniya, M. D., Kavtaradze, N. S., Gigoshvili, T. I., Lavoï, S., Pichette, A. Mshvildadze, V. D. (2007). Cyclocanthoside E from *Astragalus caucasicus*. Chemistry of Natural Compounds, 43, 758-759.

144. Isaev, M. I., Imomnazarov, B. A., Fadeev, Yu. M. and Kintya, P. K. (1992). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins XLII. Cycloartanes of *Astragalus tragacantha*. Chemistry of Natural Compounds, 28, 315-320.

145. Naubeev, T. K., Uteniyazov, K. K., Kachala, V. V. and Shashkov, A. S. (2007). Cyclochivinoside B from the aerial part of *Astragalus chivensis*. Chemistry of Natural Compounds, 43, 166-169.

146. Polat, E., Caliskan-Alankus, O., Perrone, A., Piacente, S. and Bedir, E. (2009). Cycloartane-type glycosides from *Astragalus amblolepis*. Phytochemistry, 70, 628-634.

147. Hirotani, M., Zhou, Y., Rui, H and Furuya, T. (1994). Astragalosides from hairy root cultures of *Astragalus membranaceus*. Phytochemistry, 36, 665-670

148. Hirotani, M., Zhou, Y., Rui, H and Furuya, T. (1994). Cycloartane triterpene glycosides from the hairy root cultures of *Astragalus membranaceus*. Phytochemistry, 37, 1403-1407.

149. Calis, I., Yusufoglu, H., Zerbe, O. and Sticher, O. (1999). Cephalotoside A: a tridesmosidic cycloartane type glycoside from *Astragalus cephalotes* var. *brevicalyx*. Phytochemistry, 50, 843-847

150. Horo, I., Bedir E., Masullo, M., Piacente, S., Ozgokce, F., Alankus-Caliskan, O. (2012). Saponins from *Astragalus hareftae* (NAB.) SIRJ. Phytochemistry, 84, 147-153.

151. Isaev, M. I. (1996). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. LIV. Askendoside G from *Astragalus taschkendicus*. Chemistry of Natural Compounds, 32, 706-709.

152. Asaad, A.M. (2000). A minor cycloartane saponin from *Astragalus boeticus* L. Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences, 14, 105.

153. Kucherbaev, K. J., Uteniyazov, K. K., Kachala, V.V., Saatov, Z and Shashkov, A. S. (2002). Triterpene glycosides from plants of the *Astragalus* genus. Structure of Cyclounifolioside A from *Astragalus unifoliolatus*. Chemistry of Natural Compounds, 38, 175-178.

154. Kucherbaev, K. J., Uteniyazov, K. K., Kachala, V. V., Saatov, Z. and Shashkov, A. S. (2002). Triterpene glycosides from plants of the *Astragalus* genus. IV. Structure of

cyclounifolioside D from *Astragalus unifoliolatus*. Chemistry of Natural Compounds, 38, 574- 576.

155. Yu, Q.T., Li, P., Bi, Z.M., Luo, J. and Gao, X.D. (2007). Two new saponins from the aerial part of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. Chinese Chemical Letters, 18, 554-556.

156. Orsini, F., Verotta, L., Barboni, L., El-Sebakhy, N. A., Asaad, A. M., Abdallah, R. M. and Toaima, S. M. (1994). Cycloartane triterpene glycosides from *Astragalus alexandrinus*. Phytochemistry, 35, 745-749.

157. Bi, Z. M., Yu, Q. T., Li, P., Lin, Y. and Gao, X. D. (2007). Flavonoids from aerial parts of *Astragalus mongholicus*. Chinese Journal of Natural Medicines, 15, 263-265.

158. Perrone, A., Masullo, M., Bassarello, C., Bloise, E., Hamed, A., Nigro, P., Pizza, C. and Piacente, S. (2008). Unusual cycloartane glycosides from *Astragalus eremophilus*. Tetrahedron, 64, 5061-5071.

159. Zhu, Y. Z., Lu, S. H., Okada, Y., Takata, M. and Okuyama, T. (1992). Two new cycloartane-type glucosides, Mongholicoside I and II, from the aerial part of *Astragalus mongholicus*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 40, 2230-2232.

160. Radwan, M. M., El-Sebakhy, N. A., Asaad, A. M., Toaima, S. M and Kingston, D. G. I. (2004). Kahiricosides II-V, cycloartane glycosides from an Egyptian collection of *Astragalus kahiricus*. Phytochemistry, 65, 2909-2913.

161. Yu, Q. T., Li, P., Bi, Z. M., Luo, J. and Gao, X. D. (2007). Two new saponins from the aerial part of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. Chinese Chemical Letters, 18, 554-556.

162. Calis, I., Zor, M., Saracoglu, I., Isimer, A. and Ruegger, H. (1996). Four novel cycloartane glycosides from *Astragalus oleifolius*. Journal of Natural Products, 59, 1019-1023.

163. Bedir, E., Calis, I. and Khan, I.A. (2000). Macrophyllsaponin E: a novel compound from the roots of *Astragalus oleifolius*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 48, 1081-1083.

164. Iskenderov, D.A., Isaev, I. M. and Isaev, M.I. (2008). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXVII. Cyclomacrogin B, a new cycloartane triterpenoid. Chemistry of Natural Compounds, 44, 621-624.

165. Iskenderov, D. A., Isaev, I.M. and Isaev, M.I. (2009). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXIX. Structure of cyclomacroside C. Chemistry of Natural

Compounds, 45, 132-134.

166. Iskenderov, D. A., Isaev, I. M. and Isaev, M. I. (2009). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. Cyclomacroside D, a new bisdesmoside. Chemistry of Natural Compounds, 45, 55-58

167. Iskenderov, D. A., Isaev, I. M. and Isaev, M. I. (2009). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXXII. Cyclomacroside B, a new glycoside. Chemistry of Natural Compounds, 45, 511-513.

168. Iskenderov, D. A., Isaev, I. M. and Isaev, M. I. (2010). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. Structure of cyclomacroside E. Chemistry of Natural Compounds, 46, 250-253.

169. Iskenderov, D.A., Isaev, I.M. and Isaev, M.I. (2009). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXXIII. Structure of cyclomacroside A. Chemistry of Natural Compounds, 45, 656-659.

170. Mamedova, R. P., Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (2005). Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXI. Cycloorbicoside D, a new glycoside from *Astragalus orbiculatus*. Chemistry of Natural Compounds, 41, 429-431.

171. Mamedova, R. P., Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (2003). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. Cycloorbigenin C, a new cycloartane genin. Chemistry of Natural Compounds, 39, 470-474.

172. Karabey, F. and Bedir, E (2009). A new cycloartane-type glycoside from *Astragalus schottianus* Boiss. Planta Medica, 75, 97.

173. Yalcin, F.N., Piacente, S., Perrone, A., Capasso, A., Duman, H., and Calis, I. (2012). Cycloartane glycosides from *Astragalus stereocalyx* Bornm. Phytochemistry, 73, 119-126.

174. Semmar, N., Fenet, B., Lacaille-Dubois, M.A., Gluchoff-Fiasson, K., Chemli, R. and Jay, M. (2001). Two new glycosides from *Astragalus caprinus*. Journal of Natural Products, 64, 656-658.

175. Alaniya, M.D., Kavtaradze, N.S., Faure, R. and Debrauwer, L. (2008). Cycloascauloside B from *Astragalus caucasicus*. Chemistry of Natural Compounds, 44, 324-326.

176. Agzamova, M. A and Isaev, M. I. (1999). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins LIX. Structure of cyclocanthoside F. Chemistry of Natural Compounds, 35, 314-319.

- 177.** Sukhina, I. A., Agzamova, M. A and Isaev, M. I. (1999). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins LX. Cyclodissectoside. A new dixyloside of cyclocephalogenin. *Chemistry of Natural Compounds*, 35, 442-444.
- 178.** Bedir, E., Calis, I., Zerbe, O and Sticher, O. (1998). Cyclocephaloside I: A novel cycloartane-type glycoside from *Astragalus microcephalus*. *Journal of Natural Products*, 61, 503-505.
- 179.** Karabey, F., Khan, I.A and Bedir, E. (2012). Cycloartane-type glycosides from *Astragalus schottianus*. *Phytochemistry Letters*, 5, 320-324.
- 180.** El-Sebakhy, N. A., Harras, F. M., Abdallah, R. M., Asaad, A. M., Orsini, F., Pelizzoni, F., Sello, G. and Verotta, L. (1990). Cycloartane triterpene glycosides from Egyptian *Astragalus* species. *Phytochemistry*, 29, 3271-3274.
- 181.** Abdallah, R. M., Ghazy, N. M., Asaad, A. M., El-Sebakhy, N. A., Pirillo, A and Verotta, L. (1994). Constituents of the Egyptian *Astragalus tomentosus* Lam. *Pharmazie*, 49, 377-378.
- 182.** Radwan, M. M., Farooq, A., El-Sebakhy, N. A., Asaad, A. M., Toaima, S. M. and Kingston, D. G. I. (2004). Acetals of three new cycloartane-type saponins from egyptian collections of *Astragalus tomentosus*. *Journal of Natural Products*, 67, 487-490.
- 183.** Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (1998). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins LVIII. The structure of dihydrocycloorbigenin A. *Chemistry of Natural Compounds*, 34, 477-479.
- 184.** Mamedova, R. P., Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (2002). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. Cycloorbicoside C, a new bisdesmoside. *Chemistry of Natural Compounds*, 38, 570-573.
- 185.** Kuang, H., Okada, Y., Yang, B., Tian, Z. and Okuyama, T. (2009). Secocycloartane triterpenoidal saponins from the leaves of *Astragalus membranaceus* Bunge. *Helvetica Chimica Acta*, 92, 950-958.
- 186.** Mamedova, R. P., Agzamova, M. A. and Isaev, M. I. (2003). Triterpene glycosides and their genins from *Astragalus*. Orbigenin, the first lanostanoid from *Astragalus* plants. *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 475-578.
- 187.** Mamedova, R.P. Agzamova, M.A. Isaev, M.I. (2003). Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. Orbicoside, the first lanostane glycoside from *Astragalus* plants. *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 583-585.
- 188.** El-Sebakhy, N.A., Asaad, A.M., Abdallah, R.M., Toaima, S.M., Verotta, L. and

- Orsini, F. (2000). Constituents of Egyptian *Astragalus tribuloides* Del. Natural Products Sciences, 6, 11-15.
189. Shaker, K. H., Bernhardt, M., Elgamal, M. H. A. and Seifert, K. (2001). Triterpenoid saponins from *Astragalus trigonus*. Zeitschrift fuer Naturforschung, C, 56, 699-702.
190. Benchadi, W., Haba, H., Lavaud, C., Harakat, D. and Benkhaled, M. (2013). Secondary metabolites of *Astragalus cruciatus* Link. and their chemotaxonomic significance. Records of Natural Products, 7, 105-113.
191. Mitaine-Offer, A.-C., Miyamoto, T., Semmar, N., Jay, M. and Lacaille-Dubois, M.-A. (2006). A new oleanane glycoside from the roots of *Astragalus caprinus*. Magnetic Resonance in Chemistry, 44, 713-716.
192. Abbas, F and Zayed, R. (2005). Bioactive saponins from *Astragalus suberi* L. growing in Yemen. Zeitschrift fuer Naturforschung C, 60, 813-820.
193. El-Hawiet, A. M., Toaima, S. M., Asaad, A. M., Radwan, M.M. and El-Sebakhy, N. A. (2010). Chemical constituents from *Astragalus annularis* Forsk. and *A.trimestris* L., Fabaceae. Brazilian Journal of Farmacognosy, 20, 860-865.
194. Gulcemal, D., Masullo, M., Napolitano, A., Karayildirim, T., Bedir, E., Alankus-Caliskan, O. and Piacente, S. (2013). Oleanane glycosides from *Astragalus tauricolus*: Isolation and structural elucidation based on a preliminary liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry profiling. Phytochemistry, 86, 184-194.
195. Gulcemal, D., Masullo, M., Bedir, E., Festa, M., Karayildirim, T., Alankus-Caliskan, O and Piacente, S. (2012). Triterpene glycosides from *Astragalus angustifolius*. Planta Medica, 78, 720-729.
196. Li, J and Jiang, J. Q. (2010). Npehinone from *Astragalus mongholicus*. Pharmacy Today, 32.
197. Yili, A., Aisa, H. and Isaev, M. I. (2009). Betulinic acid and sterols from *Astragalus altaicus*. Chemistry of Natural Compounds, 45, 592-594.
198. Krasteva, I., Nikolov, S., Kaloga, M. and Mayer, G. (2006). Triterpenoid saponins from *Astragalus corniculatus*. Zeitschrift fuer Naturforschung B, 61, 1166-1169.
199. Krasteva, I., Nikolov, S., Kaloga, M. and Mayer, G. (2007). A new lactone saponin from *Astragalus corniculatus*. Natural Product Research, 21, 941-945.
200. Krivenchuk, P. E., Litvinenko, V. I., Maksyutina, N. P., Deryugina, L. I., Tikhonov, A. I and Darmograi V. N. (1968). Polyphenol compounds in some *Astragalus*, *Lemna*, and *Gypsophila* species. po Fenol'nym Soedineniyam, 104.

- 201.** El-Latif, R. R. A., Shabana, M. H., El-Gandour, A. H., Mansour, R. M and Sharaf, M. (2003). A New Isoflavone from *Astragalus peregrinus*. Chemistry of Natural Compounds, 39, 536-537.
- 202.** Perrone, A., Masullo, M., Plaza, A., Hamed, A. and Piacente, S. (2009). Flavone and flavonol glycosides from *Astragalus eremophilus* and *Astragalus vogelli*. Natural Products Communications, 4, 77-82.
- 203.** Chaturvedula, V. S. P and Prakash, I. (2013). Flavonoids from *Astragalus propinquus*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 5, 261–265.
- 204.** Toaima, S. M. (2002). Flavonoidal glycosides of some *Astragalus* species. Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences, 16,135-138.
- 205.** Shabana, M. H., Mansour, R. M., Sharaf, M., Abd-El-Latif, R. R. and Ghandour, A. H. E. (2006). A comparative morphological, phytochemical and biological study of *Astragalus hamosus* L. and *Astragalus peregrinus* Vahl. subsp *peregrines* . Bulletin of the Faculty of Pharmacy, 44, 175-184.
- 206.** Kavtaradze, N. S., Alaniya, M. D., Mshvildadze, V. D., Skhirtladze, A. V., Lavoie, S. and Pichette, A. (2011). Flavonoids from *Astragalus microcephalus*. Chemistry of Natural Compounds, 46, 971-973.
- 207.** Khozhambergenova, P and Blinova, K. F. (1980). Flavonoids of *Astragalus ammodendron*. Chemistry of Natural Compounds, 4, 566.
- 208.** Yasinov, R. K. (1986). Flavonoids of *Astragalus macropterum*. Chemistry of Natural Compounds, 4, 513.
- 209.** Makbul, M. A. and Blinova, K. G. (1980). Flavonoids of *Astragalus melilotoides*. Chemistry of Natural Compounds, 15, 640-641.
- 210.** Krasteva, I., Nikolova, I., Danchev, N. and Nikolov, S. (2004). Phytochemical analysis of ethyl acetate extract from *Astragalus corniculatus* Bieb. and brain antihypoxic activity. Acta Pharmaceutica, 54, 151-156.
- 211.** Alaniya, M. D., Komissarenko, N. F. and Kemertelidze, E. P. (1974). Flavonoids from *Astragalus galegifolius* and *A. maximus*. Chemistry of Natural Compounds, 8, 784.
- 212.** Guzhva, N. N. (2010). Flavonoids and hydroxycinnamic acids from *Astragalus asper*. Chemistry of Natural Compounds, 46, 303-304.
- 213.** Hasan, A., Sadiq, A., Abbas, A., Mughal, E., Khan, K. M. and Ali, M. (2010). Isolation and synthesis of flavonols and comparison of their antioxidant activity. Natural Product Research, 24, 995.

214. El-Mawla, A. and Attia, A. (2002). Production of flavonoids in cell cultures of *Astragalus sieberi* DC. Bulletin of Pharmaceutical Sciences, Assiut University, 25, 79-83.
215. Alaniya, M. D., Kavtaradze, N. S., Bassarello, C., Skhirtladze, A. V., Pizza, C. and Kutateladze, I. (2006). Flavonoids from *Astragalus galegiformis* leaves. Chemistry of Natural Compounds, 42, 681-685.
216. Alaniya, M. D., Chkadua, N. F. (2001). Flavonoids of *Astragalus Tana*. Chemistry of Natural Compounds, 36, 537.
217. Shabana, M. H. (2003). New flavonol glycoside from *Astragalus spinosus* Forssk. Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences, 43, 19-27.
218. Krasteva, I., Platikanov, S., Nikolov, S. and Kaloga, M. (2007). Flavonoids from *Astragalus hamosus*. Natural Product Research, 21, 392-395.
219. Alaniya, M. D., Komissarenko, N. F. and Kemertelidze, E. P. (1975). Ascaside-A new flavonoid glycoside of *Astragalus caucasicus*. Chemistry of Natural Compounds, 11, 364-366.
220. Semmar, N., Fenet, B., Gluchoff-Fiasson, K., Hasan, A. and Jay, M. (2002). Four new flavonol glycosides from the leaves of *Astragalus caprinus*. Journal of Natural Products, 65, 576-579.
221. Semmar, N., Fenet, B., Gluchoff-Fiasson, K., Comte, G and Jay, M. (2002). New flavonol tetraglycosides from of *Astragalus caprinus*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 50, 981-984.
222. Yeom, S. H., Kim, M. K., Kim, H. J., Shim, J. G., Lee, J. H. and Lee, M. W. (2003). Phenolic compounds from seeds of *Astragalus sinicus* and their antioxidative activities. Saengyak Hakhoechi, 34, 344-351.
223. Dungerezh, D. and Petrenko, V. V. (1972). Kumatakenin from *Astragalus membraneceus*. Chemistry of Natural Compounds, 3, 389.
224. Alaniya, M. D., Komissarenko, N. F., Kemertelidze, E. P. (1974). Chemical structure of flavonol glycosides of *Astragalus galegiformis*. Chemistry of Natural Compounds, 8, 784
225. Kazakov, A. L., Luk'yanchikov, M. S., Dzhumyrko, S. F. and Kompantsev, V. A. (1981). Flavonoids of some *Astragalus* species. Part 1. Chemistry of Natural Compounds, 3, 388.
226. Deryugina, L. I., Maksyutina, N. P., Krivenchuk, P. E. (1968). Isorhamnetin glycoside from *Astragalus novoascanicus* flowers. Chemistry of Natural Compounds, 4, 254.

227. Bedir, E., Calis, I., Piacente, S., Pizza, C. and Khan, I. A. (2000). A new flavonol glycoside from the aerial parts of *Astragalus vulnerariae*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 48, 1994-1995.
228. Khoron'ko, A. T. (1974). Narcissin from *Astragalus dasyanthus*. Chemistry of Natural Compounds, 1, 88.
229. Marechkova, L., Kumanova, B. (1981). Isolation of flavonoids and some accompanying substances from the aboveground part of some *Astragalus centralpinus*, family: Leguminosae. Problemina Farmatsiyata, 9, 63.
230. Fathiazad, F., Movafeghi, A. and Khosropanah, M. K. (2012). Flavonol glycosides from the leaves of *Astragalus microcephalus*. International Journal of Biosciences, 2, 23-28.
231. Makbul, M. A. and Blinova, K. F. (1980). Quercetin glycosides from *Astragalus frigidus*. Chemistry of Natural Compounds, 2, 252.
232. Khozhambergenova, P. and Blinova, K. F. (1980). Quercetin glycosides from *Astragalus flexus*. Chemistry of Natural Compounds, 2, 251.
233. Yasinov, R. K., Syrovezhko, N. V., Yakovlev, G. P. and Ovcharenko, S. N. (1984). Flavonoids of *Astragalus floccosifolius*. Chemistry of Natural Compounds, 4, 523.
234. Lee, E. J., Yean, M.H., Jung, H.S., Kim, J. S. and Kang, S.S. (2008). Phytochemical studies on *Astragalus* root (2)-flavonoids and lignan. Natural Product Sciences, 14, 131-137.
235. Marco, J. L., Sanz, J. Rodriguez, B. (1983). Phenol compounds from *Astragalus clusii*. Anales de Quimica. (Série C.) 1, 94.
236. Wang, J. L., Xu, H. M., Li, W. H., Hua, Z. and Zhang, S. J. (2008). Studies on chemical constituents of *Astragalus dahuricus*. China Journal of Chinese Materia Medica 33,414-416.
237. Lin, L.-Z., He, X.-G., Lindenmaier, M., Nolan, G., Yang, J., Cleary, M., Qiu, S.X. and Cordell, G.A. (2000). Liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry study of flavonoids of the roots of *Astragalus monghlicus* and *Astragalus membranaceus*. Journal of Chromatography A, 876, 87-95.
238. Zhang, X., Xiao, H.B., Xue, X.Y., Sun, Y. G. and Liang, X. M. (2007). Simultaneous characterization of isoflavonoids and astragalosides in two *Astragalus* species by high-performance liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. Journal of Separation Science, 30, 2059-2069.
239. Martin, S. S., Townsend, C. E. and Lenssen, A. W. (1994). Induced isoflavonoids in

diverse populations of *Astragalus cicer*. Biochemical Systematics and Ecology, 22, 657-661.

240. Pei, Y., Li, R., Fu, H., Wang, J. and Zhou, Y. (2007). A new isoflavone glucoside from *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. Fitoterapia, 78, 602-604.

241. Zheng, K.Y.Z., Choi, R.C.Y., Cheung, A.W.H., Guo, A.J.Y., Bi, C.W.C., Zhu, K.Y., Fu, Q., Du, Y., Zhang, W.L., Zhan, J.Y.X., Duan, R., Lau, D.T.W., Dong, T.T.X. and Tsim, K.W.K. (2011). Flavonoids from Radix Astragali induce the expression of erythropoitin in cultured cells: A signaling mediated via the accumulation of hypoxia-inducible -1α . Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 1697-1704.

242. Xiao, W., Han, L. and Shi, B. (2009). Isolation and purification of flavonoid glycosides from Radix Astragali by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography B, 877, 697-702.

243. Zhang, L.J., Liu, H.K., Hsiao, P.C., Kuo, L.M.Y., Lee, I.-J., Wu, T.S., Chiou, W.F. and Kuo, Y.H. (2011). New isoflavonoid glycosides and related constituents from Astragali Radix (*Astragalus membranaceus*) and their inhibitory activity on nitric oxide production. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 1131-1137.

244. Tu, T.Z., Shen, J.G. and Jiang, J.Q. (2009). Studies on constituents from the roots of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. Hisao. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 24, 27-29

245. Ma, X.F. Ph.D. (2003). Thesis, Shenyang Pharmaceutical University.

246. Wen, Y.H., Cheng, L., Zheng, D., Huang, X.S. and Han, L. (2010). Constituents of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 13, 115-119.

247. Li, R.F., Zhou, Y.Z., Qiao, L., Fu, H.W. and Pei, Y.H. (2007). Chemical constituents of *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 24, 20-24

248. Zhao, M., Duan, J.A., Huang, W.Z., Zhou, R.H. and Che, C.T. (2002). Isoflavans and isoflavone from *Astragalus hoantchy*. Journal of China Pharmaceutical University, 33, 274.

249. Ma, X., Tu, P., Chen, Y., Zhang, T., Wei, Y. and Ito, Y. (2004). Preparative isolation and purification of isoflavan and pterocarpan glycosides from *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography A, 1023, 311-315.

250. Alaniya, M.D., Kavtaradze, N.S., Lavoï, S., Pichette, A. and Mshvildadze, V.D. (2009). Aurone from *Astragalus microcephalus* stems. Chemistry of Natural Compounds, 45, 455-556.
251. Sahara Nature [Consulté le 12/02/2015]. Disponible à partir de: <http://www.sahara-nature.com/plantes.php?plante=astragalus%20armatus&aff=nom>
252. Greuter, W., Burdet, H. M. and Long, G (ed.). (1989). Med-Checklist Vol 4, Genève. Conservatoire & Jardin botaniques de la Ville de Genève. 4-35p
253. Voisin, A. (1987). Utilisation des plantes médicinales dans le souf au 19^{ème} siècle. Le Sahara, 1^{er} trimestre, 100 pp. 25-28.
254. Khalfallah, A., Karioti, A., Berrehal, D., Kabouche, A., Lucci, M., Bilia, A.R. and Kabouche, Z. (2014). A new flavonol triglycoside and other flavonol glycosides from *Astragalus armatus* Willd. (Fabaceae). Records of Natural Products, 8, 12-18.
255. Wang, D. Q., Ding, B. G., Ma, Y. Q., Zhao, H. L., Neil, T. G., Brian, T., Tian, Y. P., Wang, C. B. and Ajh, C. J. (2001). Studies on protective effect of total flavonoids of *Astragalus membranaceus* on liver paracetamol-induced damage. China journal of Chinese materia medica, 26, 483-486.
256. Liu, H., Wei, W., Sun, W. and Li, X. (2009). Protective effects of astragaloside IV on porcine-serum-induced hepatic fibrosis in rats and *in vitro* effects on hepatic stellate cells. Journal of Ethnopharmacology, 122, 502-508.
257. Pistelli, L., Bertoli, A., Lepori, E., Morelli, I. and Panizzi, L. (2002). Antimicrobial and antifungal activity of crude extracts and isolated saponins from *Astragalus verrucosus*. Fitoterapia, 73, 336-339.
258. Ma, C. H., Wang, R. R., Tian, R. R., Ye, G., Fan, M. S., Zheng, Y. T. and Huang, C. G. (2009). Calycosin 7-O-beta-D-glucopyranoside, an anti-HIV agent from the roots of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. Chemistry of Natural Compounds, 45, 282-285.
259. Wang, S., Li, J., Huang, H., Gao, W., Zhuang, C., Li, B., Zhou, P., Kong, D. (2009). Anti-hepatitis B virus activities of astragaloside IV isolated from *Radix Astragali*. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 32, 132.
260. Zhou, R. F., Liu, P. X. and Tan M. (2009). Effect of *Astragalus mongholicus* injection on proliferation and apoptosis of hormone sensitive (MCF-7) breast cancer cell lines with physiological dose E2. Journal of Chinese medicinal materials, 32, 744-747.

- 261.** Momekov, G., Krasteva, I., Platikanov, S., Nikolov, S. and Konstantinov, S. (2007). Cytotoxic activity of volatiles from four *Astragalus* species. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 60, 1023-1026.
- 262.** Buhagiar, J. A., Bertoli, A., Camilleri-Podesta, M. T. and Pistelli, L. (2008). *In vitro* apoptotic bioactivity of flavonoids from *Astragalus verrucosus* Moris. *Natural Product Communications*, 3, 2007-2012.
- 263.** Ionkova, I., Momekov, G. and Proksch, P. (2010). Effects of cycloartane saponins from hairy roots of *Astragalus membranaceus* Bge., on human tumor cell targets. *Fitoterapia*, 81, 447-451.
- 264.** Liu, C. Y., Gu, Z. L., Du, C. M. and Yang, J. C. (2007). *In vitro* and *in vivo* selection of antitumor activities of extracts of *Astragalus complanatus*. *Zhongcaoyao*, 38, 1052-1054.
- 265.** Auyeung, K. K. W and Ko, J. K. S. (2010). Novel herbal flavonoids promote apoptosis but differentially induce cell cycle arrest in human colon cancer cell. *Investigational New Drugs*, 28, 1-13.
- 266.** Krasteva, I., Momekov, G., Zdraveva, P., Konstantinov, S. and Nikolov, S. (2008). Antiproliferative effects of a flavonoid and saponins from *Astragalus hamosus* against human tumor cell lines, *Pharmacognosy Magazine*, 4, 269-272.
- 267.** Auyeung, K. K. W., Law, P. H. and Ko, J. K. S. (2009). *Astragalus* saponins induce apoptosis via an ERK-independent NF- κ B signaling pathway in the human hepatocellular HepG2 cell line. *International Journal of Molecular Medicine*, 23, 189-196.
- 268.** Toda, S., Yase, Y. and Shirataki, Y. (2000). Inhibitory effects of *Astragali Radix*, crude drug in Oriental medicines on lipid peroxidation and protein oxidative modification of mouse brain homogenate by copper. *Phytotherapy Research*, 14, 294-296.
- 269.** Bian, Y. Y. and Li, P. (2008). Scavenging activities for superoxide anion radicals and structure-activity relationship of flavonoids from *Astragalus membranaceus* (Fish.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, 43, 256-259.
- 270.** Toda, S. and Shirataki, Y. (2001). Comparison of antioxidative and chelating effects of daidzein and daidzin on protein oxidative modification by copper in vitro. *Biological Trace Element Research*, 79, 83.
- 271.** Li, W. Z. Li, W. P. Yin, Y. Y. (2007). Effects of astragaloside and *Astragalus* saponin I on metabolism of free radical in senescent rats treated by hydrocortisone. *China journal of Chinese materia medica*, 32, 2539-2542.

272. Chen, Z. K., Hu, S. J., Zheng, X., Wang, G. B., Sun, J., Xia, Q. and Shen, Y. L. (2003). Effect of *Astragalus membranaceus* on baroreflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 28, 155-158.
273. Xue, B., Li, J., Chai, Q., Liu, Z. and Chen, L. (2008). Effect of total flavonoid fraction of *Astragalus complanatus* R. Brown on angiotensin II-induced portal-vein contraction in hypertensive rats, *Phytomedicine*, 15, 759-762.
274. Shi, H. L., Liu, Y., Ma, C. L., Hu, Z. B. and Wu, D. Z. (2009). Effect of astragaloside IV on relaxation and molecule mechanism in isolated rat aortic rings from hypertensive rats. *Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies*, 28, 905.
275. Ko, J. K. S., Lam, F. Y. L. and Cheung, A. P. L. (2005). Amelioration of experimental colitis by *Astragalus membranaceus* through anti-oxidation and inhibition of adhesion molecule synthesis. *World Journal of Gastroenterology*, 11, 5787-5794.
276. Lee, Y. S., Han, O. K., Park, C. W., Suh, S. I., Shin, S. W., Yang, C. H., Jeon, T. W., Lee, E. S., Kim, K. J. and Kim, S. H. (2003). Immunomodulatory effects of aqueous-extracted Astragali Radix in methotrexate-treated mouse spleen cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 193-198.
277. Kang, H., Ahn, K. S., Cho, C. and Bae, H. S. (2004). Immunomodulatory effect of Astragali Radix extract on murine TH1/TH2 cell lineage development. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 1946-1950.
278. Nalbantsoya, A., Nesil, T., Yılmaz-Dilsiz, Ö., Aksu, G., Khan, S. and Bedir, E. (2012). Evaluation of the immunomodulatory properties in mice and *in vitro* anti-inflammatory activity of cycloartane type saponins from *Astragalus* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, 574-581.
279. Shon, Y. H. and Nam, K. S. (2003). Protective effect of Astragali Radix extract on interleukin 1beta-induced inflammation in human amnion. *Phytotherapy Research*, 17, 1016-1020.
280. Choi, S.I., Heo, T.R., Min, B.H., Cui, J. H., Choi, B.H. and Park, S.R (2007). Alleviation of osteoarthritis by calycosin-7-O-beta-D-glucopyranoside (CG) isolated from Astragali Radix (AR) in rabbit osteoarthritis (OA) model. *Osteoarthritis Cartilage*, 15, 1086-1092.
281. Fang, W. K., Ko, F. Y., Wang, H. L., Kuo, C. H., Chen, L. M., Tsai, F. J. Tsai, C. H., Chen, Y. S., Kuo, W. W. and Huang, C. Y. (2009). The proliferation and migration effects of Huangqi on RSC96 Schwann cells. *American Journal of Chinese Medicine*, 37, 945-959.

- 282.** Tohda, C., Tamura, T., Matsuyama, S. and Komatsu, K. (2006). Promotion of axonal maturation and prevention of memory loss in mice by extracts of *Astragalus mongholicus*. *British Journal of Pharmacology*, 149, 532-541.
- 283.** Huang, L. M., Liang, H. and Tian, Z. (2009). Effects of Astragali radix on renal function and its protein expression of iga nephropathy in mice. *Chinese Journal of Natural Medicine*, 7, 54-59.
- 284.** Hoo, R. L. C., Wong, J. Y. L., Qiao, C., Xu, A., Xu, H and Lam, K. S. L. (2010). The effective fraction isolated from Radix Astragali alleviates glucose intolerance, insulin resistance and hypertriglyceridemia in db/db diabetic mice through its anti-inflammatory activity. *Nutrition and Metabolism*, 7, 67.
- 285.** Motomura, K., Fujiwara, Y., Kiyota, N., Tsurushima, K., Takeya, M., Nohara, T., Nagai, R. and Ikeda, T. (2009). Astragalosides isolated from the root of *Astragalus Radix* inhibit the formation of advanced glycation end products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 7666-7672.
- 286.** Xu, A., Wang, H., Hoo, R. L., Sweeney, G., Vanhoutte, P. M., Wang, Y., Wu, D., Chu, W., Qin, G. and Lam, K. S. (2009). Selective elevation of adiponectin production by the natural compounds derived from a medicinal herb alleviates insulin resistance and glucose intolerance in obese mice. *Endocrinology*, 150, 625-633.
- 287.** Navarrete, A., Arrieta, J., Terrones, L., Abou-Gazar, H. and Calis, I. (2005). Gastroprotective effect of Astragaloside IV: Role of prostaglandins, sulfhydryls and nitric oxide. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57, 1059-1064.
- 288.** Xu, X. L., Ji, H., Gu, S. Y., Shao, Q., Huang, Q. J. and Cheng, Y. P. (2008). Cardioprotective effects of Astragali Radix against isoproterenol-induced myocardial injury in rats and its possible mechanism. *Phytotherapy Research*, 22, 389-394.
- 289.** Liu, Y., Hua, S. D., He, Y. G., Jin, Y. Z. and Cui X. (2008). Effects of *Astragalus membranaceus* on atrial dynamics and ANP secretion. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 33, 2226-2229.
- 290.** Wu, J. H., Li, Q., Wu, M. Y., Guo, D. J., Chen, H. L., Chen, S. L., Seto, S. W., Au, A. L. S., Poon, C. C. W. and Leung, G. P. H. (2010). Formononetin, an isoflavone, relaxes rat isolated aorta through endothelium-dependent and endothelium-independent pathways *Journal of Nutritional Biochemistry*. 21, 613-320.
- 291.** Shen, H. H., Wang, K., Li, W., Ying, Y. H., Gao, G. X., Li, X. B. and Huang, H. Q. (2008). *Astragalus membranaceus* prevents airway hyperreactivity in mice related to Th2 response inhibition. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 363-369.

- 292.** Du, Q., Chen, Z., Zhou, L. F, Du, Q., Zhang, Q., Huang, M. and Yin, K. S (2008). Inhibitory effects of astragaloside IV on ovalbumin-induced chronic experimental asthma. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 86, 449-457.
- 293.** Zhu, X. L. and Zhu, B. D. (2000). Effect of AMI on proliferative cycle phase of bone marrow cells in mice. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 23, 625-627.
- 294.** Cameron, E. and Pauling, L. (1976). Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc National Academy of Science USA*, 73, 3685-3689.
- 295.** Rolland, Y. (2004). Actualités des lipides en cosmétique : Antioxydants naturels végétaux. *Oil seeds and fats, Crops and Lipids*, 11, 419-424.
- 296.** Poirier, J. (2004). *L'indispensable pour vivre en santé*, Edition Merlin, p 72.
- 297.** Massy, Z. (2006). *Le cholestérol : le suivi du patient à l'officine*. Wolters Kluwer, France Edition, p 66.
- 298.** Médart, J. (2009). *Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative*. Editions De Boeck Supérieur, p 49.
- 299.** Yoshikawa, T. Toyokuni, S., Yamamoto, Y. and Naito, Y, eds. (2000). *Free radicals in chemistry, Biology and Medecine*. Ed. OICA Internationnal, London.
- 300.** Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, 108-115.
- 301.** Boyd, B., Ford, C., Koepke Michael, C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S. and McAnalley, B. (2003) Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience and Nutrition*, 4, 7.
- 302.** Vansant, G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- 303.** Dewanto, V., Wu, X. and Liu, R. H. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4959-4964.
- 304.** Maydani, M. (2000). Effect of functional food ingredients: Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (suppl), 1665S-1668S.
- 305.** Bossokpi, I. P. L. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanth-oxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p133.
- 306.** Fain, O. (2004). Mise au point : Carences en vitamine C. *La revue de médecine interne*, 25, 872-880.

- 307.** Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J. and Frei, B. (1999). Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicin*, 26, 90-98.
- 308.** Lee, J., Koo, N. and Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 3, 21-33.
- 309.** Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes C. J. and Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266, 37-56.
- 310.** Packer, J. E., Mahood, J. S., Mora-Arellano, V. O., Slater, T. F., Willson, R. L. and Wolfenden. B. S. (1981). Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a peroxy-radical with beta-carotene, diphenyl furan and 1,4-diazobicyclo (2,2,2)-octane. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 98, 901-906.
- 311.** Burton, G. W. and K. U. Ingold. (1984). beta-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 224,569-573.
- 312.** Sarni-Manchado, P. and Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p.
- 313.** Justen, U., Knuthsen, P. and Leth, T. (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography*, 799, 101-110.
- 314.** Kampkötter, A., Timpel, C., Zurawski, R. F., Ruhl, S., Chovolou, Y., Proksch, P. and Wätjen, W. (2008). Increase of stress resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 149, 314-323
- 315.** Lee, C. Y., Sharma, A., Cheong, J. E. and Nelson, J. L. (2009). Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 19, 6326-6330.
- 316.** Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L. and Wul, M. J. (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from *Lotus Plumule* and *Blossom* (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of Food and Drug Analysis*, 11, 60-66.
- 317.** Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8, 121-137.

- 318.** Huang, D., Ou, B. and Prior, R.I. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- 319.** Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M. and Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384, 240-242.
- 320.** Cano, A., Alcaraz, O., Acosta, M. and Arnao, M. B. (2002). On-line antioxidant activity determination: comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS⁺ assay. *Redox Report*, 7, 103-109.
- 321.** Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- 322.** Öztürk, M., Kolak, U., Topcu, G., Oksuz, S. and Choudhary, M. I. (2011). Antioxidant and anticholinesterase active constituents from *Micromeria cilicica* by radical-scavenging activity-guided fractionation. *Food Chemistry*, 126, 31-38.
- 323.** Pellegrini, N., Re, R., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical cation decolorization assay. *Methodes in Enzymology*, 299, 379-389.
- 324.** Blois, MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 81, 1199-1200.
- 325.** Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 4290-4302.
- 326.** Decker, E. A. and Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674-677.
- 327.** Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E. (2004) Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E. using their cupricion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.
- 328.** Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D. and Ouar Korich, M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n° 91.
- 329.** Nicolas, M. and Daniel, C. (1998). Activités technologiques en microbiologie I - Techniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP d'Aquitaine-Bordeaux, 152.
- 330.** Comité OMS d'experts de la standardisation biologique. (1977). 28^{ème} édition, série de rapport technique n°610, OMS, Genève, 106, 138.

331. NCCL Standard for antimicrobial susceptibility testing by diffusion methods NCCLS. (1985). Documents, 5, 4.
332. Assous, M. R., Basse- Guérineau, A. L., Bourhy, R. D. and Paugam, A. (1999). Microbiologie et Pathologie Infectieuse. 2^{ème} Edition. Ed DeBoeck Université, p 979.
333. Joffin, J. N. and Leyral, G. (2006). Microbiologie technique 1 dictionnaire des techniques. Volume 14 ^{ème} Ed. Biologie Technique, p 368.
334. Lansing, M., Prescott, J., Harley, P. and Klein, DA. (2003). Microbiologie. 2^{ème} Edition française : De boeck, p 1164.
335. Mahima, A., Verma, K., Kumar, A., Kumar, V. and Rahal, A. (2012). Designer milk for human health : A future need. International Journal of Dairy Science, 7, 70-72.
336. Lamby, H. S., Verma, A. K., Mahima, J. U. and Bist, B. (2009). Bacteriological quality of chevon and pork in Mathura city. Journal of Veterinary Public Health, 7, 141-143.
337. Verma, A. K., Sinha, D. K. and Singh, B. R. (2007). Salmonella in apparently health dogs. Journal of Veterinary Public Health, 5, 37-39
338. Chauhan, R. S. (2010). Nutrition immunity and livestock health. Indian Cow, 7, 2-13
339. Archana, S. J., Paul, R. and Tiwari, A. (2011). Indian medicinal plants : A rich source of natural immuno-modulator. International Journal of Pharmacology, 7, 198-205.
340. Wagner, H. and Proksh, A. (1985). Immunostimulatory drugs of fungi and higher plants, in Economic and medicinal plant research Vol. I, edited by H Wagner (Academic Press, London-New York), 113.
341. Bafna, A. R. and Mishra, S. H. (2004). Immunomodulatory activity of methanol extract of flower-heads of *Sphaeranthus indicus* Linn, Ars Pharmaceutica, 45, 281.
342. Wang, D.C. (1989). Influence of *Astragalus membranaceus* polysaccharide FB on immunologic function of human periphery blood lymphocyte. Chinese Journal of Oncology, 11, 180-183.
343. Chakraborty, G. S., Patil, V. and Kaushik, K. N. (2009). Evaluation of immunomodulatory activity of *Aesculus indica*. Journal of Pharmacy Research, 1, 385-387.
344. Agrawal, S. S., Khadase, S. C. and Gokul S. (2010). Studies on Immunomodulatory Activity of *Capparis zeylanica* Leaf Extracts. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology, 3, 887-892.

- 345.** Chandua, S. and Kailash, H. (2011). Studies on immunomodulatory activity of *Aloe vera*. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 2, 19-22.
- 346.** Lu, Y., Fan, J., Zhao, Y., Chen, S., Zheng, X., Yin, Y. and Fu, C. (2007). Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Actinidia macrosperma*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16, 261-265.
- 347.** Manu, K. A. and Kuttan G. (2009). Immunomodulatory activities of Punarnavine, an alkaloid from *boerhaavia diffusa*. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 31, 377-387.
- 348.** Wang, Q., Haixue, K., Yang, S., Yanping, S., Jian, F., Rui, G. and Kelvin, C. (2013). Review Naturally derived anti-inflammatory compounds from Chinese medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 46, 9-39.
- 349.** He, S., Gaça, M. D. A. and Walls, A. F. (1998). A role for tryptase in the activation of human mast cells: modulation of histamine release by tryptase and inhibitors of tryptase. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 286, 289-297.
- 350.** Deborah, E. K., David, M., Andrew, C. D., Jackie, G. E., Gary, S. G. and Margie, M. P. (2009). N,N,-diethyl-m-toluamide (DEET) suppresses humoral immunological function in B6C3F1 mice. The Journal of Toxicological Sciences, 108, 110-123.
- 351.** Melichar, B., Jandik, P., Krejsek, J., Solichova, D., Drahosova, M., Skopec, F., Mergancova, J. and Voboril, Z. (1996). Mitogen-induced lymphocyte proliferation and systemic immune activation in cancer patients. Tumori, 82, 218-220.
- 352.** Biozzi, G., Benacerraf, B. and Halpern, B. N. (1953). Quantitative study of the granulopoietic activity of the reticulo- endothelial system. British Journal of Experimental Pathology, 34, 426-440.
- 353.** Doherty, N.S. (1981). Selective effect of immunosuppressive agents against the delayed hypersensitive response and humoral response to sheep red blood cells in mice. Agents Actions, 11, 237-242
- 354.** OECD (2000). Guideline, 423, acute oral toxicity: Environmental Health and Safety Monograph series on Testing and Assessment No. 24.
- 355.** Agarwal, R., Diwanay, S., Patki, P. and Patwardhan, B. (1999). Studies on immunomodulatory activity of *Withania somnifera* (Ashwagandha) extracts in experimental immune inflammation. Journal of Ethnopharmacology, 67, 27-35.
- 356.** Ghule, B.V., Muruganathan, G., Nakhat, P. D. and Yeole. P.G. (2006). Immunostimulant effects of *Capparis zeylanica* Linn. Leaves. Journal of Ethnopharmacology, 108, 311-315.357.

- 357.** Bauer, A.W., Kirby W. M., Sherris J. C. and Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-496.
- 358.** Clinical and Laboratory Standards Institute. (2007). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Tentative standard M 26-T. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- 359.** Kr'steva, I., Nikolov, S. and Pavlova, D. (1999). Flavonoids from *Astragalus ponticus* Pall. (Fabaceae). *Farmatsiya*, 2, 6.
- 360.** Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. (1970). The systematic identification of flavonoids, Springer-Verlag, New York.
- 361.** Jones, E. R. H and Halsall T. G. (1955). Tetracyclic triterpenes. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Springer Vienna, 12, pp. 44-130.
- 362.** Agrawal, P. K. (1992). NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*, 31, 3307-3330.
- 363.** Burasheva, G.Sh., Mukhamedyarova, M.M. and Chumbalov, T. K. (1975). Flavonoids of *Alhagi kirgisorum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 11, 441.
- 364.** Wang, Li., Liu, J., Yang, J., Shaanxi, S., Daxue, X. and Ziran K. (2008). Studies on antioxidant activities of ethanolic extract from defatted Semen *Astragali complanati in vitro*, 36, 72-75.
- 365.** Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S. and Dadpour, M. R. (2012). Ontogenetic variation of total phenolics and antioxidant activity in roots, leaves and flowers of *Astragalus compactus* Lam. *BioImpacts*, 2, 105-109.
- 366.** Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933-956.
- 367.** Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M.H. (2001). Antioxidants in food: practical applications. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. New York, USA p108-109.
- 368.** Bisignano, G., Iauk, L., Kirjavainen, S. and Galati, E. M. (1994). Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and antibacterial activity of *Astragalus siculus* Biv. *International Journal of Pharmacognosy*, 32, 400-405.
- 369.** Ross, S. A., Megalla, S. E., Bishay, D. W. and Awad, A. H. (1980). Studies for determining antibiotic substances in some Egyptian plants. Part 1. Screening for antimicrobial activity. *Fitoterapia*, 51, 303-308.

- 370.** Chang, H. M. and But, P. P.H. (1987). Pharmacology and applications of Chinese materia medica. Singapore: World Scientific.
- 371.** Calis, I., Yuruker, A., Tasdemir, D., Wright, A.D., Sticher, O., De-Luo, Y. and Pezzuto, J. M. (1997). Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus melanophrurius*. *Planta Medica*, 63, 183-186.
- 372.** Pistelli, L., Bertoli, A., Lepori, E, Morelli, I., Panizzi, L. (2002). Antimicrobial and antifungal activity of crude extracts and isolated saponins from *Astragalus verrucosus*. *Fitoterapia*, 73, 336-339.
- 373.** Ucar Turker, A. and Birinci Yıldırım, A. (2013). Evaluation of antibacterial and antitumor activities of some turkish endemic plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12, 1003-1010.
- 374.** Jia, C., Ya, L., Li-Qiong, Y., Yan-Zhong, L., Zhi-Biao, N. and Kun, Gao. (2012). Biological activities of flavonoids from pathogenic-infected *Astragalus adsurgens*. *Food Chemistry*, 131, 546-551.
- 375.** Boroujerdnia, M. G., Azemi, M. E., Hemmati, A. A., Taghian, A. and Azadmehr, A. (2011). Immunomodulatory effects of *Astragalus gypsicolus* hydroalcoholic extract in ovalbumin-induced allergic mice model. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 10, 281-288.
- 376.** Yang, B., Xiao, B., Sun, T. (2013). Antitumor and immunomodulatory activity of *Astragalus membranaceus polysaccharides* in H22 tumor-bearing mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62,287-290.
- 377.** Nikbakht-Brujeni, G., Tajbakhsh, H., Pooyanmehr, M., Karimi, I. (2013). *In vitro* immunomodulatory effects of *Astragalus verus* Olivier. (black milkvetch): An immunological tapestry in Kurdish ethnomedicine. *Comparative Clinical Pathology*, 22, 29-39.
- 378.** Sigurd, J., Normann, M. D., Earl, P. and Benditt, M. D. (1965). Function of the reticuloendothelial System. Seattle: Department of Pathology, University of Washingt, 693-707.
- 379.** Furthvan, R. and Bergvanden, B. M. (1991). *Clinical Immunology*. 1st edition. London: Gower Medical Publishing, p 67.
- 380.** Nalbantsoy, A., Nesil, T., Yilmaz-Dilsiz, O., Aksu, G., Khan, S., and Bedir, E. (2012). Evaluation of the immunomodulatory properties in mice and *in vitro* anti-inflammatory activity of cycloartane type saponins from *Astragalus* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, 574-581.

PARTIE 2 :

*SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS
JULOLIDINIQUES VIA
AUTOTRANSFERT
D'HYDROGÈNE*

INTRODUCTION GÉNÉRALE

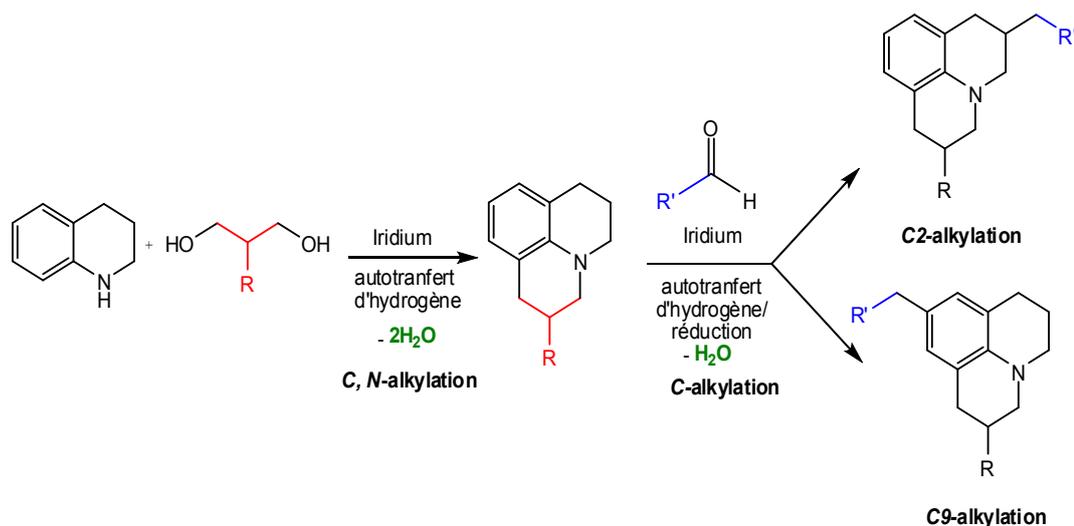
Au cours des dernières décennies, les besoins en produits chimiques sont devenus de plus en plus importants, par conséquent les impacts négatifs du progrès industriel ont motivé l'homme à essayer de construire une société plus durable et respectueuse de l'environnement.

Dans ce concept, la chimie verte est apparue comme une nécessité pour notre société. Les 12 principes de la chimie verte développés par Paul T. Anastas et John Charles Warner [1] ont pour objectif de concevoir des produits et des processus chimiques permettant de réduire l'utilisation et la synthèse de substances dangereuses ou toxiques.

La catalyse est l'un des principes de la chimie verte jouant un rôle clé [1], elle permet d'utiliser des substances en quantité non stœchiométriques et limiter le nombre d'étapes dans les processus réactionnels, ainsi que la quantité de déchets produits. Afin d'aller vers une chimie plus propre et durable, le développement de nouvelles méthodologies en catalyse organométallique doit tenir compte l'environnement et de l'équilibre écologique.

La julolidine (2,3,6,7-tétrahydro-1H, 5H-benzo [ij] quinolizidine) est un alcaloïde synthétique dérivant de la quinolizidine, cette dernière est un fragment clé présent dans nombreux alcaloïdes naturels [2]. Elle a été synthétisée pour la première fois en 1892 par Pinkus, par la réaction du 1-bromo-3-chloropropane avec la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine [3]. Récemment, un procédé prometteur a été développé pour la synthèse de julolidines substituées [4]. La julolidine et ses dérivés ont trouvé de nombreuses applications : comme substances de chimioluminescence [5], substrats chromogènes dans les réactions analytiques redox [6] et rotors moléculaires fluorescents [7,8]. La synthèse des julolidines implique habituellement la réaction d'anilines ou des tétrahydroquinoléines avec des propanes 1,3-dihalogénés tels que le 3-chloro-1-bromopropane suivie de la fonctionnalisation du carbone C9 [9,10]. Le développement d'une nouvelle méthode est souhaitable et pourrait conduire à la synthèse des julolidines fonctionnalisées, sans l'utilisation des réactifs-halogénés, avec la génération de l'eau comme le seul sous produit.

Dans un souci de respect de l'environnement, nous décrivons dans cette partie, la synthèse catalytique de julolidines fonctionnalisées, par le processus d'autotransfert d'hydrogène.



Cette partie comprend trois chapitres

- Le premier chapitre est un aperçu bibliographique sur les méthodes d'autotransfert d'hydrogène et sur la synthèse de dérivés julolidines, ainsi que leurs intérêts biologiques.
- Le deuxième chapitre est consacré aux résultats et discussion des réactions entre la tétrahydroquinoléine et des diols avec une post-fonctionnalisation de ces produits par des aldéhydes par autotransfert d'hydrogène.
- Le troisième chapitre décrit la partie expérimentale.

Cette partie se termine par une conclusion générale.

CHAPITRE I:
Aperçu bibliographique

I. Introduction

Le transfert de l'hydrogène est défini comme la réduction des multiples liaisons par un donneur d'hydrogène en présence d'un catalyseur [2]. Le processus subit une abstraction d'hydrogène à partir d'une molécule organique en tant que donneur d'hydrogène *via* un catalyseur, suivi par l'addition d'hydrogène au groupe fonctionnel insaturé de l'accepteur d'hydrogène [] (**schéma 1**).



Schéma 1 : Equation du transfert d'hydrogène

L'autotransfert d'hydrogène, également appelé l'emprunt d'hydrogène (**schéma 2**) peut aussi être défini comme le couplage direct des alcools avec des réactifs nucléophiles pour former une nouvelle liaison. L'avantage de cette réaction est l'utilisation de l'alcool directement sans aucune activation, fournissant une meilleure économie d'atome et avec des déchets moins toxiques [4-6].

Le transfert d'atome d'hydrogène (HAT) est une étape clé dans de nombreuses réactions chimiques, de l'environnement et des processus biologiques

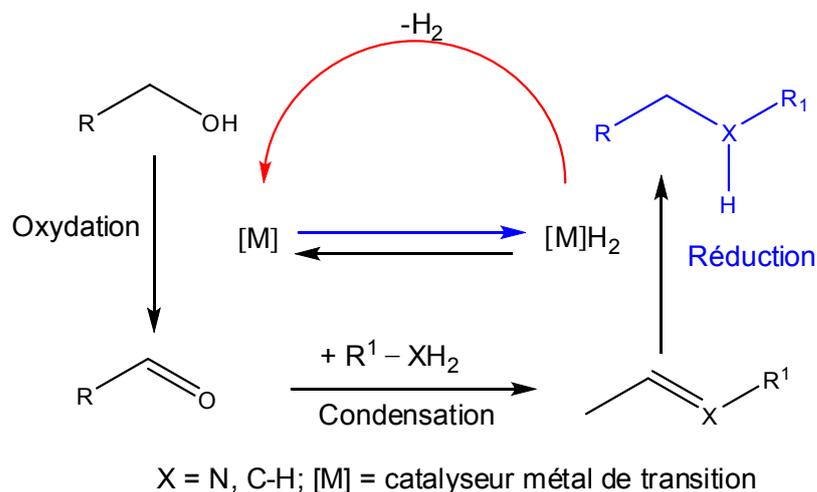


Schéma 2 : Autotransfert d'hydrogène dans l'alkylation d'une amine avec un alcool

L'autotransfert d'hydrogène peut donc fournir un moyen pour lier de différentes molécules dans des conditions bénignes, à fin de former des entités plus complexes pour être utilisés comme produit de départ pour la synthèse organique.

Dans ce chapitre, nous avons élaboré un aperçu bibliographique sur les réactions de transfert d'hydrogène et des généralités sur la fonctionnalisation et les applications des julolidines.

I.1. Réactions de transfert d'hydrogène dans la synthèse de molécules hétérocycliques

I.1.1. N-Alkylation de l'aniline avec les alcools primaires utilisant la silicone et l'oxyde d'aluminium

La silicone et l'oxyde d'aluminium sont recueillis dans la même section en raison de leur comportement similaire. En fait, différents oxydes métalliques peuvent conduire à la N-alkylation d'amines par un mécanisme catalysé par un acide. Cependant, la voie de la réaction passe par un processus d'autotransfert d'hydrogène. Ce processus est favorisé grâce à la présence de l'aldéhyde correspondant ou l'alcane dans le milieu réactionnel, généré lors de l'oxydation de l'alcool et décarbonylation [7] (**schéma 3**).

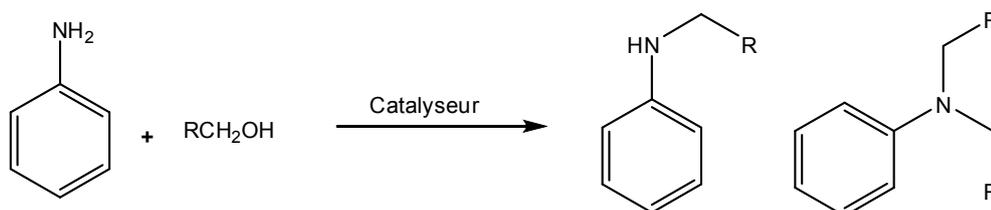


Schéma 3 : N-Alkylation de l'aniline avec les alcools primaires utilisant la silicone et l'oxyde d'aluminium

I.1.2. C-alkylation des arylacétonitriles par des alcools

Les travaux antérieurs de Grigg et al. (**schéma 4**) sur la N-alkylation des amines, catalysée par des alcools, ont conduit à étudier la C-alkylation des arylacétonitriles par des alcools, catalysée par les métaux de transitions [8a].

La monoalkylation catalytique sélective d'arylacétonitriles par des alcools primaires peut être réalisée à une température $T < 100^\circ\text{C}$, en utilisant le catalyseur à base de trichlorure de rhodium, préparé *in situ*, avec la triphénylphosphine et le carbonate de sodium. Le catalyseur $\text{RuH}_2(\text{PPh}_3)_4$ est le plus efficace pour ce processus. L'alkylation du groupe méthylène actif des arylacétonitriles est généralement effectuée par l'utilisation des bases fortes et des halogénures d'alkyle ou 3-diméthyl sulfate [8b].

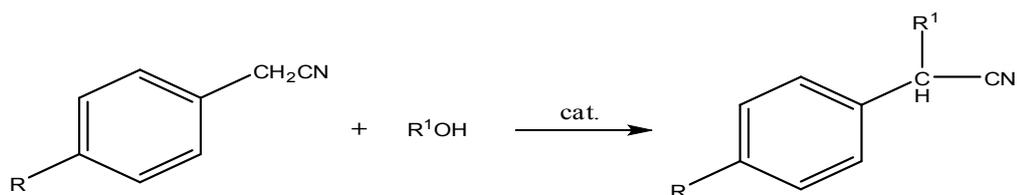


Schéma 4 : C-alkylation des arylacétonitriles par des alcools

I.1.3. N-alkylation et N-hétérocyclisation de l'aniline en utilisant des alcools et des aldéhydes, catalysées par le ruthénium

L'aniline réagit avec des alcools saturés et 2,3-insaturés en présence d'un catalyseur de ruthénium à 180°C pour donner les N-alkylanilines et les 2,3-alkylquinoléines avec de bons rendements (schéma 5). Watanabe et al. ont rapporté l'hétérocyclisation des aminoarènes avec des aldéhydes, catalysée par le rhodium, et la synthèse des N-alkylanilines et d'alkylquinoléines, en utilisant des aldéhydes et du monoxyde de carbone. Il faut signaler que le ruthénium catalyse la N-alkylation et la N-hétérocyclisation d'aniline en utilisant des alcools et aldéhydes [9].

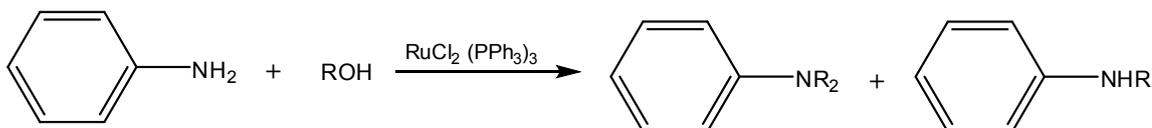


Schéma 5: N-alkylation et N-hétérocyclisation de l'aniline en utilisant des alcools et des aldéhydes, catalysées par le ruthénium

I.1.4. N-alkylation et N-benylation des aminoarènes avec des alcools catalysées par le ruthénium

Des aminoarènes sont transformés directement en amines secondaires et tertiaires par réaction avec des alcools primaires en présence de catalyseurs complexes de Ru dont le plus actif est le dichloro-tris(triphénylphosphine)-Ru à 150-180°C [10] (schéma 6). Les auteurs proposent un cycle catalytique qui met en jeu une attaque nucléophile de l'aminoarène sur un aldéhyde intermédiaire.

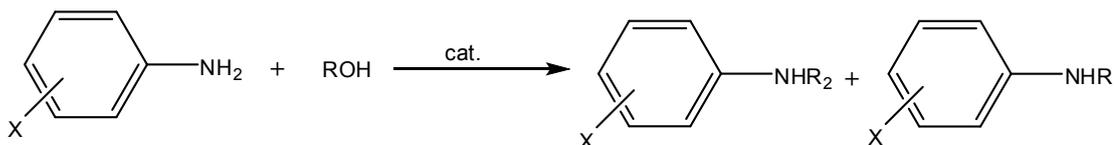


Schéma 6 : N-alkylation et N-benylation des aminoarènes avec des alcools catalysées par le ruthénium

I.1.5. Réaction de transfert d'hydrogène catalysée par le complexe [IrCp*]

L'activité catalytique des complexes à base de [IrCp*] dans les réactions de transfert d'hydrogène (**schéma 7**) est bien discutée [11]. Trois types de réactions différentes ont été développés. Le premier type est l'oxydation des alcools. Cette réaction se déroule dans des conditions tout à fait douces (température ambiante) dans de l'acétone, elle est catalysée par [Ir(Cp*)Cl₂]₂/K₂CO₃ [11]. L'introduction d'un ligand carbène N-hétérocyclique a considérablement amélioré l'activité catalytique du catalyseur. Le second type est la N-alkylation d'amines avec des alcools [11]. Un nouveau système catalytique efficace constitué de [Ir(Cp*)Cl₂]₂/K₂CO₃ a été développé pour la N-alkylation d'amines primaires avec des alcools. Le troisième type est le transfert d'hydrogène régio et chimiosélectif de quinoléines [11]. Une méthode efficace pour le transfert d'hydrogénation de quinoléines catalysée par [Ir(Cp*)Cl₂]₂/HClO₄ utilise le 2-propanol comme source d'hydrogène [11]. Une variété de dérivés de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine peut être synthétisée par cette méthode [11].

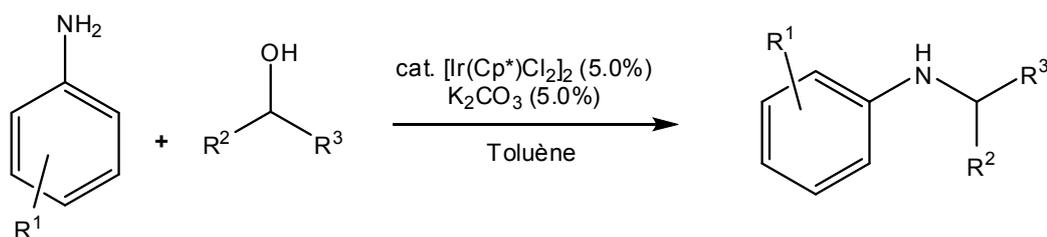


Schéma 7 : Réaction de transfert d'hydrogène catalysée par le complexe [IrCp*]

I.1.6. Activation des alcools

Les alcools peuvent être convertis en composés carbonylés temporairement par l'élimination d'un hydrogène. Les composés carbonylés sont réactifs dans une large gamme de transformations pour donner des alcènes, des imines, et des composés carbonyles α -fonctionnalisés. Ici le catalyseur conduit à un processus global dans lequel les alcools peuvent être convertis en amines et alcools β -fonctionnalisés (**schéma 8**) [12].

DOI: 10.1002/anie.200603794

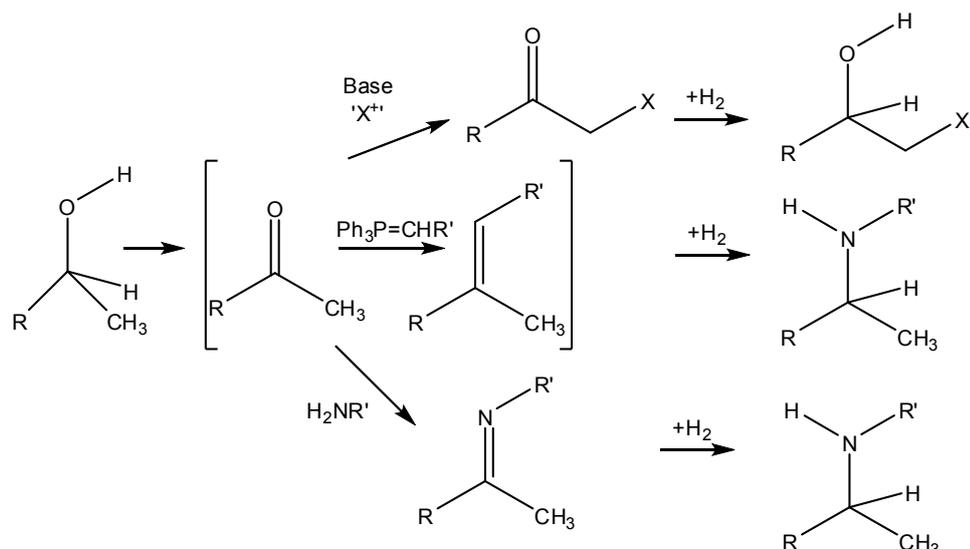


Schéma 8 : Activation des alcools *via* l'autotransfert d'hydrogène

I.1.7. N-alkylation de la 2- (pipérazinyl) pyrimidine avec un groupe benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthanol, en utilisant le $[\text{RuCl}_2(p\text{-cymène})]_2$: Synthèse de Piribédil

Le $[\text{RuCl}_2(p\text{-cymène})]_2$ a été utilisé en combinaison avec le 1,1'-bis (diphénylphosphanoferrocène) (DPPF) comme système catalytique dans l'alkylation de quantités équimolaires des amines secondaires avec l'alcool primaire, en présence d'un tamis moléculaire, avec de bons rendements de 62 à 97% [13]. L'acétate d'ammonium peut être utilisé comme une source du nucléophile pour donner la tribenzylamine, par réaction avec 5 équivalents de l'alcool benzyle, en l'absence de solvant (**schéma 9**).

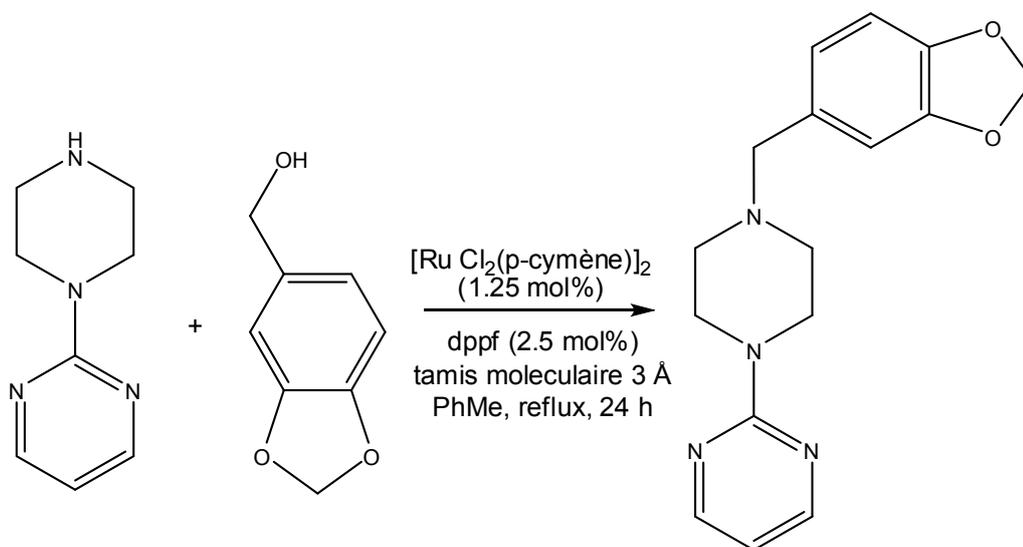


Schéma 9 : Synthèse de Piribédil

I.1.8. Synthèse sélective des amines secondaires et tertiaires, catalysée par [IrCp*], multialkylation de sels d'ammonium avec des alcools

La synthèse sélective efficace des amines secondaires et tertiaires a été réalisée en utilisant [IrCp*] comme catalyseur de multialkylation de sels d'ammonium avec des alcools sans solvant. Les réactions de l'acétate d'ammonium avec des alcools ont donné exclusivement des amines tertiaires, tandis que celles du tétrafluoroborate d'ammonium a donné sélectivement les amines secondaires. En utilisant cette méthode, les amines secondaires cycliques à 5 et 6 chaînons ont été synthétisées, en une seule étape, à partir de tétrafluoroborate d'ammonium et de diols [14] (schéma 10).

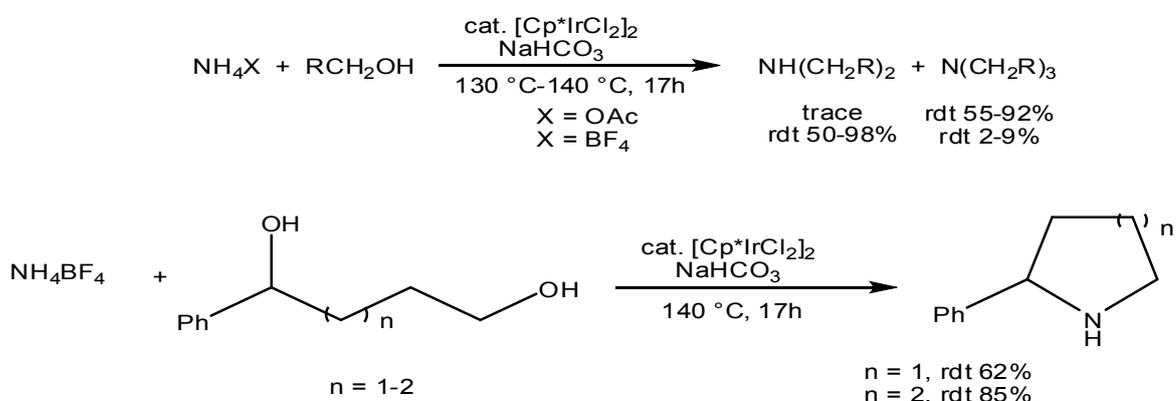


Schéma 10: Synthèse sélective des amines secondaires et tertiaires

I.1.9. Cyclisation de la 1,2-ethanoldiamine avec des 1,2-diols, en utilisant comme catalyseur Ru₃(CO)₁₂: Synthèse de pipérazines substituées

L'amination des alcools secondaires en vue de l'obtention d'amines tertiaires a été réalisée en utilisant le ligand N-phényl-2(dicyclohexylphosphanyl) pyrrole avec [Ru₃(CO)₁₂], en utilisant l'alcool tert-amyle comme solvant. Les amines cycliques ont été alkylées avec différents alcools avec de bons rendements. Par ailleurs, les amines aliphatiques ont donné des sous produits transalkylés [15] (schéma 11).

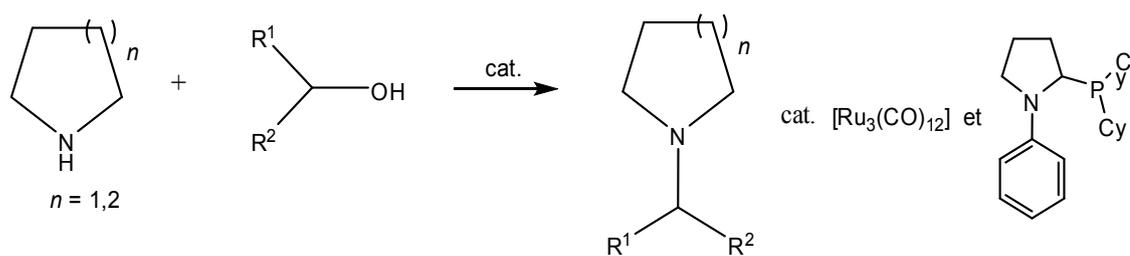


Schéma 11: N-alkylation catalytique de pipéridine et de pyrrolidine avec différents alcools

I.1.10. N-hétérocyclisation de naphthylamines avec les 1,2- et les 1,3-diols, catalysée par le chlorure d'iridium avec un système BINAP

Les dérivés benzoquinoléines ont été synthétisés avec succès par N-hétérocyclisation de naphthylamines avec des diols. Par exemple, la réaction de la 1-naphthylamine avec le 1,3-propanediol, catalysée par [Ir] combiné avec un ligand BINAP (2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle) conduit à la 7,8-benzoquinoléine avec un bon rendement (**schéma 12**). La réaction de N-hétérocyclisation a été trouvée pour être sensiblement influencée par les ligands utilisés. Les benzoindoles ont également été synthétisés par la même réaction de naphthylamines avec les 1,2-diols [16].

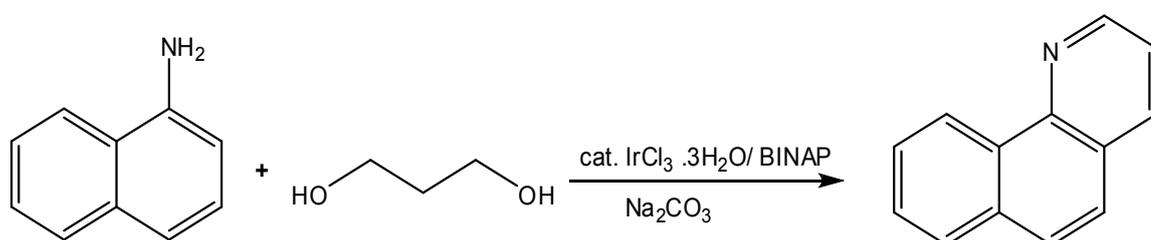


Schéma 12: N-hétérocyclisation de naphthylamines avec les 1,2- et les 1,3-diols

I.1.11. N-alkylation des amines utilisant les alcools et les amines comme électrophiles

L'alkylation des amines à travers le processus de transfert d'hydrogène doit être classée dans l'ensemble d'activation intermédiaire (**schéma 13**), dans lequel soit un alcool ou une amine est la source d'électrophile [7]. Cette stratégie présente des avantages évidents à l'égard des processus d'hydroamination tels que la simplicité de protocole, la disponibilité de réactifs de départ, et l'importance de nombre de catalyseurs capables de catalyser ce type de réaction [7].

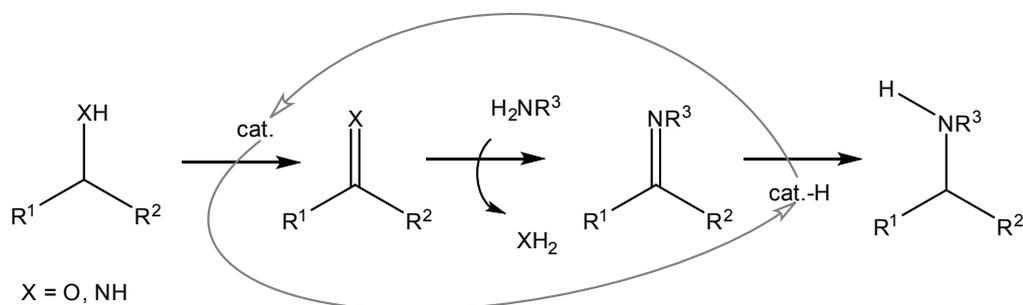


Schéma 13 : N-alkylation des amines utilisant les alcools et les amines comme électrophiles

I.1.12. Amination catalytique des alcools par l'ammoniaque

Le schéma 14 montre la synthèse des amines par l'amination des alcools par le processus de transfert d'hydrogène. Ces transformations sont très intéressantes parce que les alcools utilisés sont facilement disponibles [17]. En outre, l'amination d'alcools produit de l'eau comme le seul sous-produit, ce qui rend le processus potentiellement vert pour l'environnement. Des amines alkylées sont produites à l'échelle de l'industrie chimique avec ce procédé de synthèse.

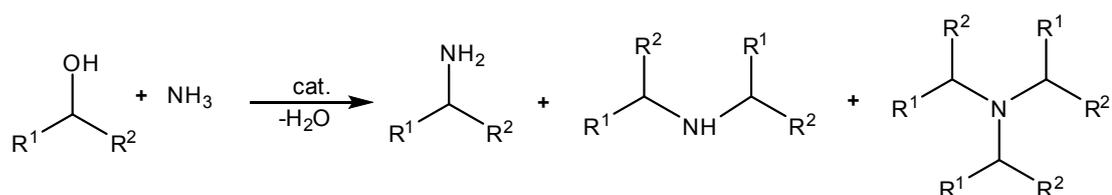


Schéma 14: Amination catalytique des alcools par l'ammoniaque

I.1.13. Synthèse des quinazolinones catalysée par l'iridium

La cyclisation oxydative des alcools primaires avec des *o*-aminobenzamides "one-pot" pour synthétiser les quinazolinones a été effectuée, avec succès, en utilisant le complexe $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ comme catalyseur, dans des conditions de transfert d'hydrogène [18] (schéma 15).

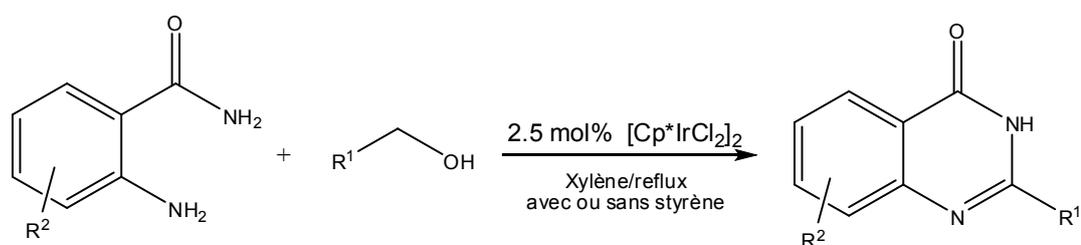


Schéma 15 : Synthèse des quinazolinones catalysée par l'iridium

I.1.14. Alkylation de la méthylquinoléine par des alcools catalysée par l'iridium

L'alkylation de la méthylquinoléine catalysée par l'iridium a été effectuée en utilisant des alcools comme des agents d'alkylation [19] (schéma 16). La réaction se déroule à travers le transfert d'hydrogène à partir d'alcool vers le complexe $[\text{Ir}]$, donnant un aldéhyde et une espèce d'hydrure d'iridium $[\text{Ir}-\text{H}]$, suivie d'une condensation aldolique et d'une hydrogénation. Cette méthode fournit une voie d'économie d'atome facile et accessible à des alkylquinoléines et des méthylquinoléines.

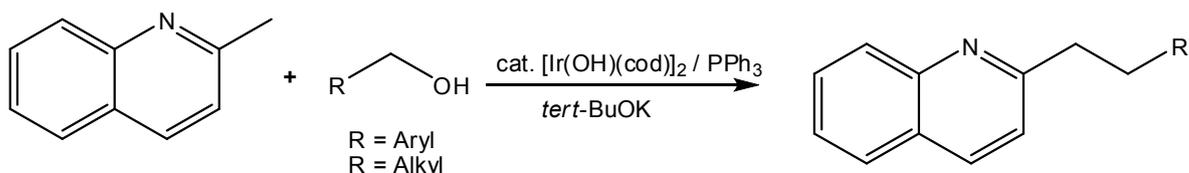


Schéma 16: Alkylation de la méthylquinoléine par des alcools catalysée par l'iridium

I.1.15. Alkylation sélective (hétéro) aromatique, des amines avec des alcools catalysée par un complexe du ruthénium

Un complexe facilement disponible, le ruthénium (II) à pince, catalyse la monoalkylation sélective des (hétéro) amines aromatiques avec une large gamme d'alcools primaires substitués avec la pyridine, le furane et les alcools de thiophène, avec une grande efficacité, en utilisant seulement 1% mole de catalyseur. La formation d'une amine tertiaire *via* une polyalkylation ne se produit pas, ce qui rend ce système de ruthénium un excellent catalyseur pour la synthèse des amines secondaires [20] (**schéma 17**).

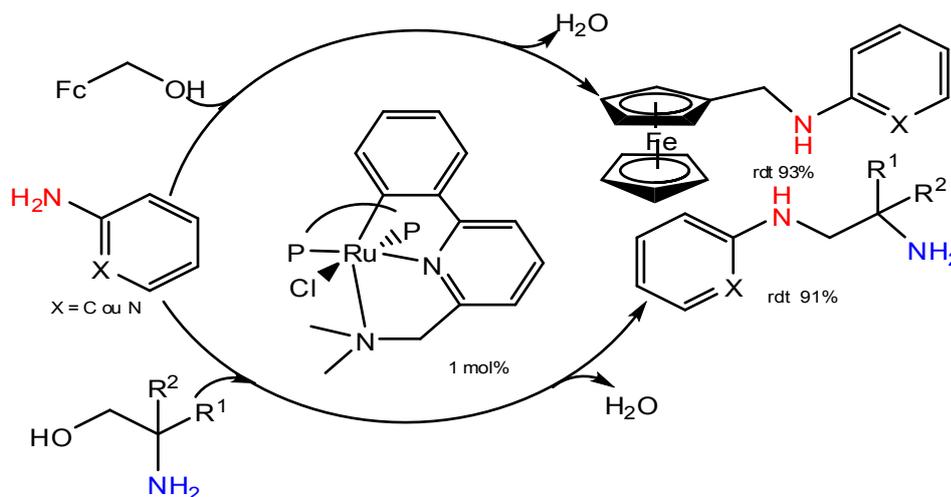


Schéma 17 : Alkylation sélective (hétéro) aromatique, des amines avec des alcools catalysée par un complexe du ruthénium

I.1.16. Synthèse sélective de N-arylpipéridines *via* le transfert d'hydrogène en tandem

Le **schéma 18** montre l'application catalytique des réactions de transfert d'hydrogène d'un nouveau catalyseur d'iridium, en effectuant l'oxydation par déshydrogénation d'alcools en aldéhydes ou cétones et les amines cycliques en énamines, pour minimiser les intermédiaires insaturés [21]. Une procédure écologique et économique impliquant plusieurs processus de transfert d'hydrogène a été développée [22].

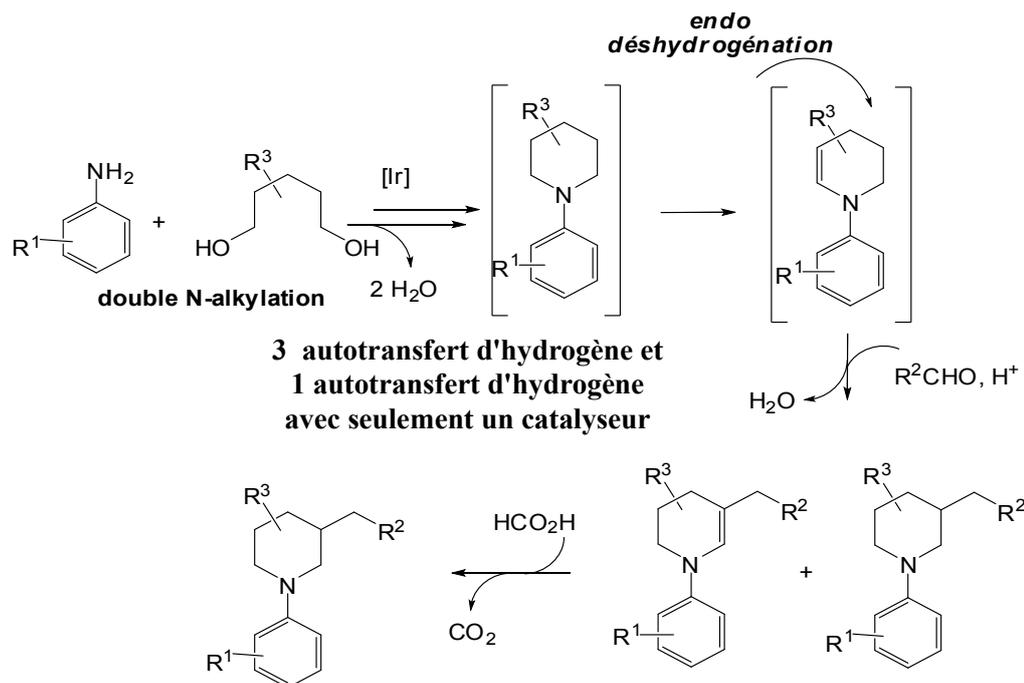


Schéma 18 : Synthèse sélective de N-arylpipéridines *via* le transfert d'hydrogène en tandem

Le **schéma 19** montre l'utilisation de plusieurs processus de transfert d'hydrogène, qui ont été développés à partir de trois composants facilement accessibles: les anilines, les diols et le benzaldéhyde pour produire les C₃, N-arylpipéridines fonctionnalisées [21].

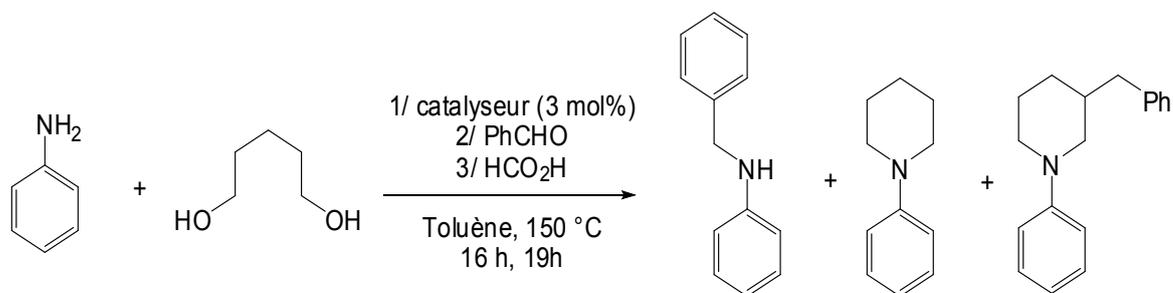


Schéma 19 : Synthèse de N-arylpipéridines fonctionnalisées

I. 1. 17. Terpénylations des amines par transfert d'hydrogène

Sahli et al. ont décrit la post-fonctionnalisation des amines cycliques en position 2 ou 3 positions par des processus d'oxydoréductions catalysés par un métal de transition [23].

Le **schéma 20** montre que la pipéridine alkylée a été mise à réagir avec le citronellal dans le toluène, catalysée par [Ru] ou [Ir] en présence de CSA (acide

camphorsulfonique) comme additif à une température de 150°C pendant 16 h. Après refroidissement, l'acide formique est ajouté comme agent réducteur. Ces conditions réactionnelles permettent aux amines d'agir à la fois comme des nucléophiles à travers la formation intermédiaires d'énamine et comme donneurs d'hydrogène pour générer les espèces d'hydrures métalliques, ce qui facilite la réduction de l'espèce iminium [23].

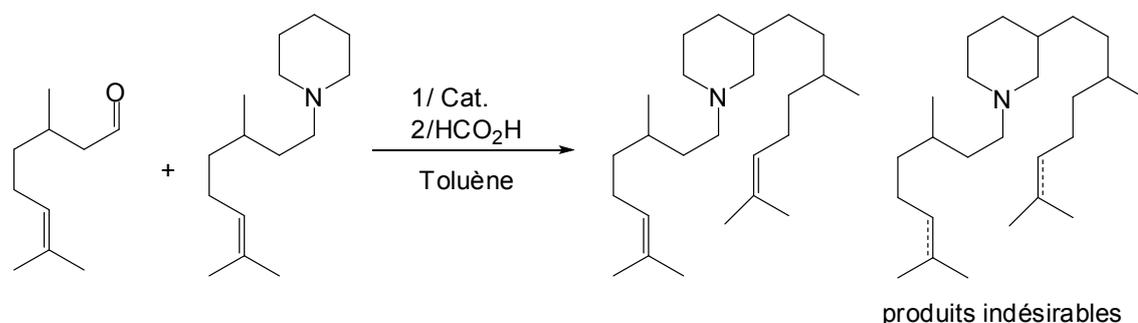


Schéma 20 : Terpénylations des amines par transfert d'hydrogène

I.1.18. N-alkylation de diamines avec le glycérol catalysée par l'iridium

La N-alkylation de 1,2-diaminocyclohexane avec le glycérol dans l'eau, catalysée par $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ donne un mélange de 2-méthyl-décahydroquinoxaline et 2-(1-hydroxyéthyl)-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-benzimidazoles [24] (**schéma 21**).

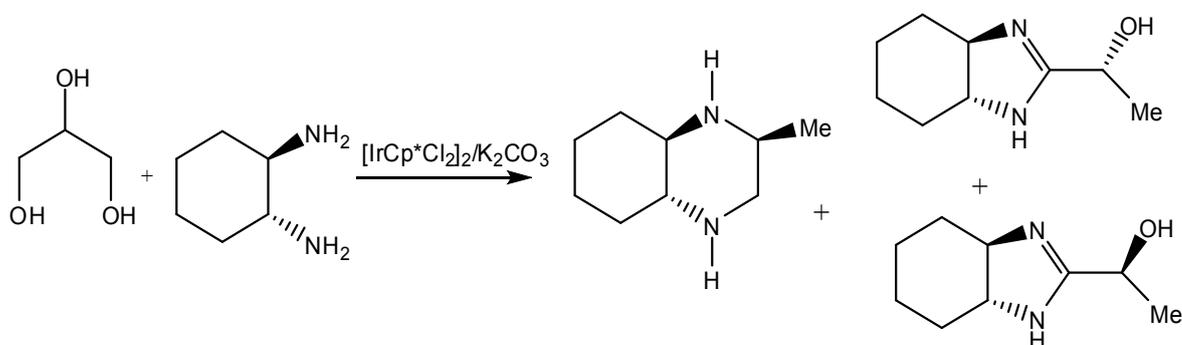


Schéma 21: N-alkylation de diamines avec le glycérol catalysée par l'iridium

I. 2. Les julolidines

I.2.1. Les julolidines définitions et intérêts

La julolidine, (2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine) est connue, depuis plus d'un siècle (**figure 1**) [25]. Récemment, ses dérivés ont été trouvés comme des matériaux photoconducteurs [26], des substances de chimioluminescence [27], des substrats chromogènes dans les réactions analytiques redox [28], des intermédiaires de

colorants [29], des antidépresseurs et des tranquillisants [30], des matériaux optiques non linéaires [31,32], "rotor" moléculaire fortement fluorescent [33,34]. Ils ont une haute sensibilité aux matériaux photopolymérisables [35]. Tandis que les dérivés d'amide de la julolidine possèdent un potentiel anti-inflammatoire, antibactérien, fongicide et anticoagulant [36].

Rotor moléculaire : sondes fluorescentes qui ont la capacité de subir un mouvement intramoléculaire de rotation à l'état excité.

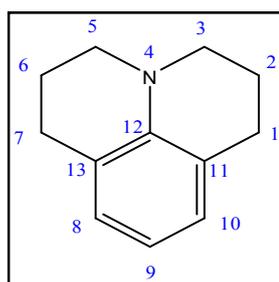


Figure 1: Structure de la julolidine

I.2.2. Synthèse des julolidines

La julolidine a été préparée pour la première fois, par la réaction de triméthylène chlorobromure avec le formanilide, l'aniline, la méthylaniline et la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine [25], par la condensation intramoléculaire de 1-(γ -bromopropyl) tétrahydroquinoléine [37], et par déshydratation de la 1-(γ -hydroxypropyl) tétrahydroquinoléine ou de di (γ -hydroxypropyl)aniline avec du phosphore pentoxide [38].

En 1946, Glass et Weissberger (**schéma 22**) ont synthétisé la julolidine par une simple méthode : (66.5 g) de 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine et 400 g de triméthylène chlorobromure sont chauffés à 150-160°C pendant 20 h, 50 mL d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés, le triméthylène chlorobromure a été éliminé par une distillation à la vapeur, le résidu a été alcalinisé avec une solution d'hydroxyde de sodium à 40% et la julolidine a été extraite par l'éther (77-81% rdt) [39].

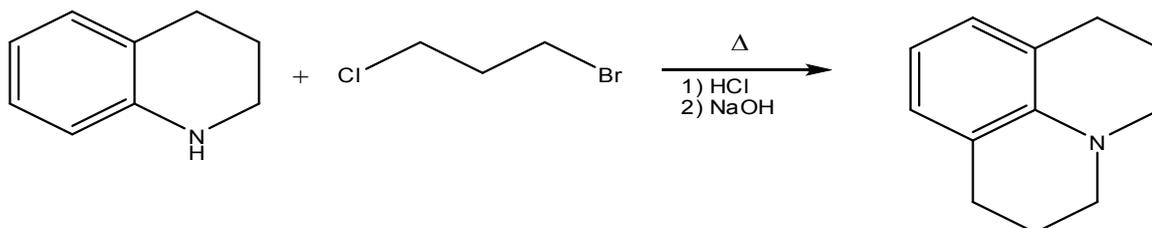


Schéma 22 : Synthèse de la julolidine par 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine et de triméthylène chlorobromure

Kost et Yudin ont synthétisé la 9,10-diméthyl-9H-julolidine par la nitration et la réduction de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine qui ont donné 83% de 1-amino-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine, qui a conduit à la 9,10-diméthyl-9H-julolidine avec 80% de rendement [40] (**schéma 23**).

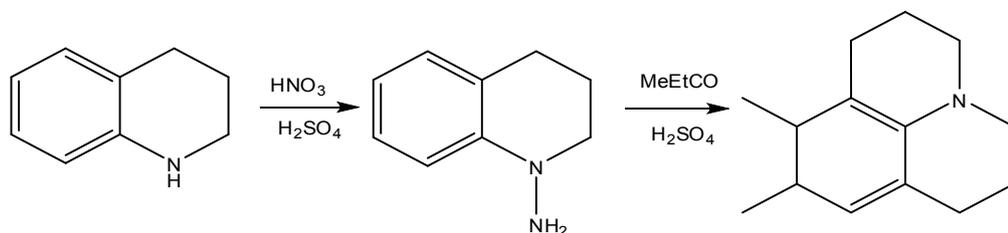


Schéma 23 : Synthèse de la 9,10-diméthyl-9H-julolidine

Merchant et Chothia, ont synthétisé la 1-oxojulolidine par une cyanoéthylation de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec l'acrylonitrile suivie d'une cyclisation avec de l'acide polyphosphorique à 100°C pendant 3 heures [41] (**schéma 24**).

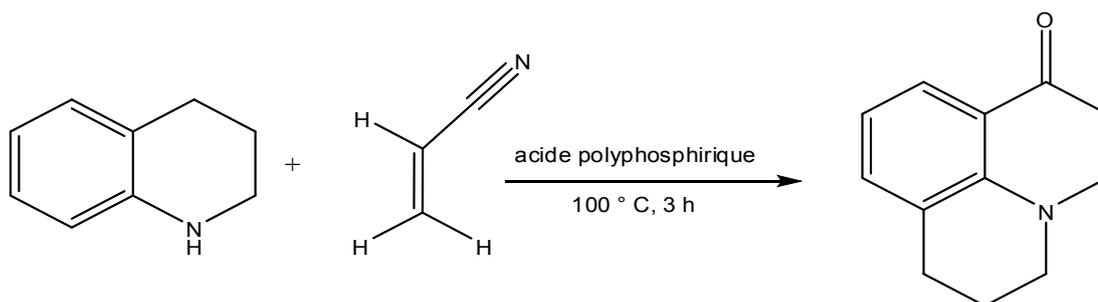


Schéma 24 : Synthèse de la 1-oxojulolidine

Les travaux antérieurs de Katayama et al. sur la synthèse de julolidines substituées en une seule étape, en mélangeant l'aniline avec le triméthylène chlorobromure [42] (**schéma 25**), ou la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec le 4-chloropropanol [43] (**schéma 26**).

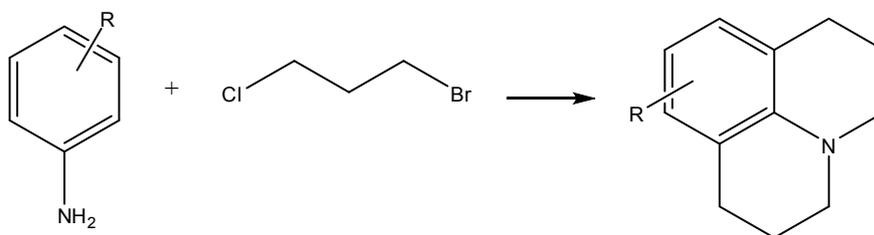


Schéma 25: Synthèse de julolidines substituées par réaction de l'aniline avec le triméthylène chlorobromure

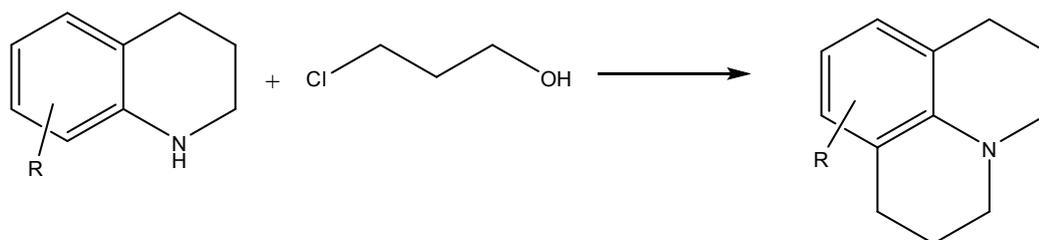


Schéma 26 : Synthèse de julolidines substituées par réaction de la tétrahydroquinoléine avec le 4-chloropropanol

La réaction de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec la 1-chloro-2,3-époxypropane a donné la 1-(3-chloro-2-hydroxypropyl)-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine qui est thermolabile. En chauffant sous vide, elle a été converti en 2,3,6,7-tétrahydro-1H, 5H-benzo [ij] quinoléin-2-ol, dont la réaction avec le pentoxyde de phosphore a conduit à la julolidine [44] (schéma 27).

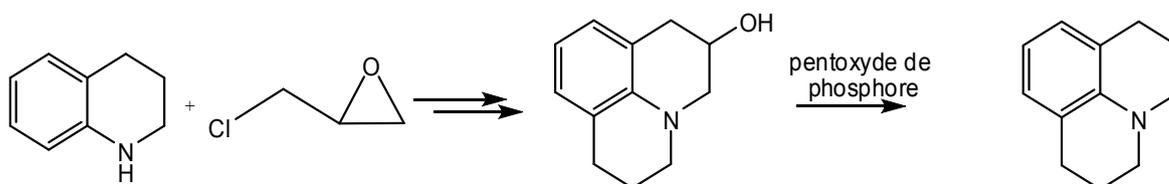


Schéma 27 : Synthèse de la julolidine par réaction de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec le 1-chloro-2,3-époxypropane

Lingman et al. ont décrit une procédure simple pour la synthèse de la 1-aryl julolidine par cyclisation de N-aryllallylanilines avec de l'acide polyphosphorique. Par conséquent, les dérivés N-allyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléines ont été soumis à une cyclisation en présence d'acide polyphosphorique, à 100-110°C, pendant 10-15 minutes, donnant la 1-aryljulolidine avec de bons rendements [45] (schéma 28).

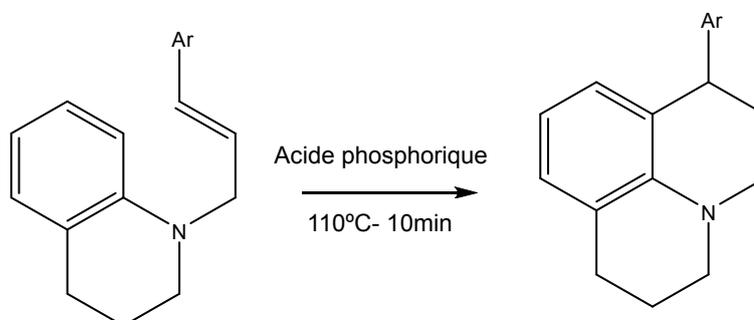


Schéma 28 : Synthèse de la 1-aryljulolidine

I.2.3. Synthèse de dérivés de la julolidine

Alan et al. ont développé une nouvelle méthode de synthèse de julolidines à base de benzotriazole, permettant la synthèse d'une variété de dérivés substitués. Les nouvelles synthèses de julolidines présentées dans le **schéma 29**, basées sur les intermédiaires de type benzotriazole de Ar-N-POCt, offrent à la fois la simplicité et la diversité. Le procédé est particulièrement utile pour la synthèse des julolidines 1,7-disubstituées symétriquement et asymétriquement ainsi que pour l'introduction d'un, deux ou trois substituants, dans une combinaison quelconque, en position C-1, C-2 et C-3 de la julolidine [46].

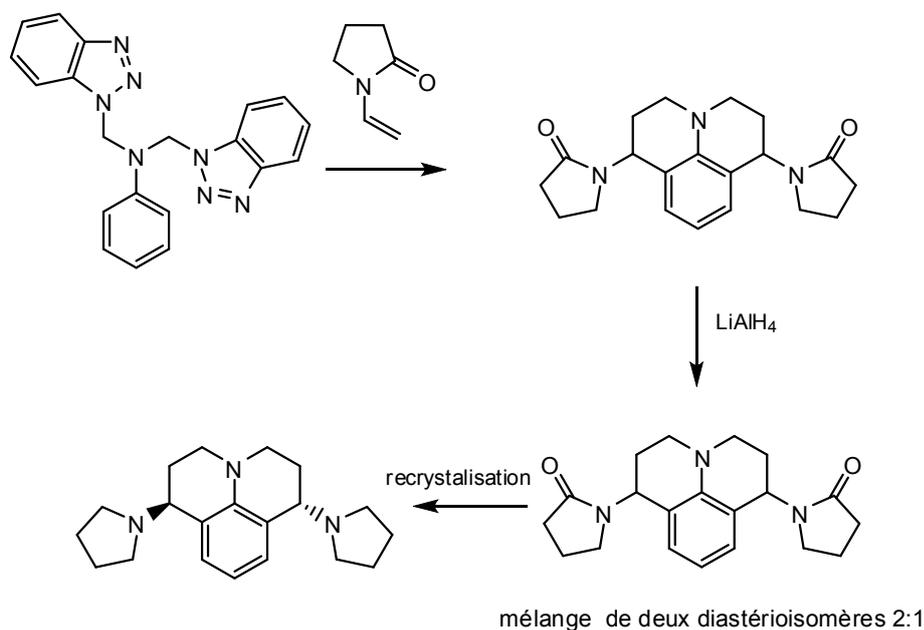


Schéma 29 : Synthèse des julolidines 1,7- disubstituées

Récemment, Wirtz et al. ont décrit la condensation de Pechmann de l'hydroxyjulolidine avec une gamme de β -oxoesters fonctionnalisés pour obtenir les coumarines aminosubstituées (dérivés de la julolidine). Bien que la condensation de Pechmann soit adaptée pour une large gamme de phénols, elle s'applique aussi aux aminophénols, probablement en raison de la protonation d'amine et la désactivation du noyau aromatique par l'acide fort. Donc, une procédure très douce pour catalyser la synthèse des coumarines 4-substituées a été développée [47] (**schéma 30**).

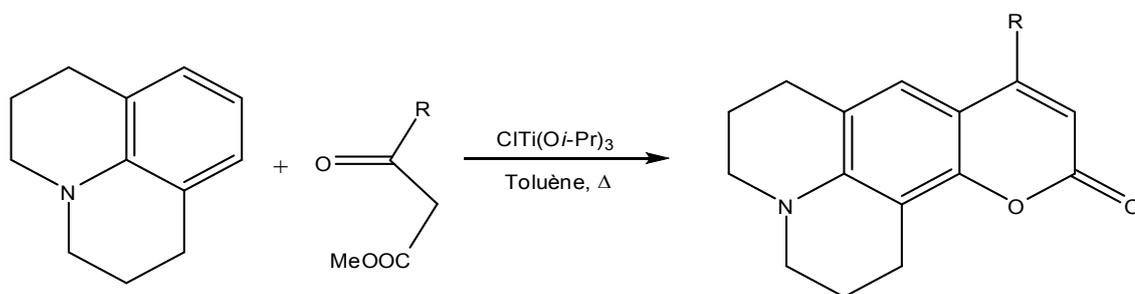


Schéma 30 : Synthèse de coumarines 4-substituées

I.3. Applications des julolidines

En raison des effets électroniques forts et de leurs propriétés fluorescentes, les dérivés julolidiniques ont trouvé de larges applications comme photosensibilisateurs dans les sciences des matériaux, y compris dans des diodes électroluminescentes organiques et des cellules solaires.

I.3.1. Influence des cycles de tétrahydroquinoléine dans le dicyanométhylène-dihydrofuranne (DCDHF)

Le schéma 31 décrit la synthèse de dicyanométhylène-dihydrofuranne avec l'amine comme un donneur acyclique. L'absorption et la fluorescence des longueurs d'onde d'émission ont été déterminées et corrélées avec les structures de donneurs spécifiques. Généralement, l'inclusion du donneur dans un anneau lié au benzène ou aux naphthalènes aromatiques, influe sur le déplacement bathochrome de l'absorption et de l'émission [48].

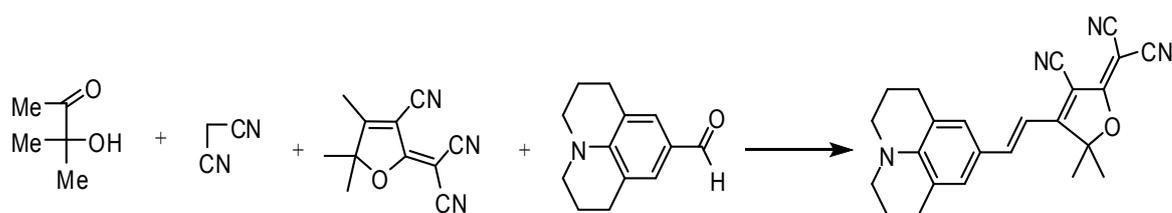


Schéma 31: Synthèse d'un fluorophore à base de julolidine par la réaction de Vilsmeier

I.3.2. Deuxième génération de "rotors" moléculaires fluorescents

Les "rotors" moléculaires fluorescents peuvent être utilisés comme des sondes moléculaires pour la viscosité d'un microenvironnement. Cependant, les "rotors" moléculaires sont limités à la 9-(dicyanovinyl)julolidine (DCVJ) et quelques dérivés. En outre, ces "rotors" traditionnels possèdent de courtes longueurs d'onde d'absorption et d'émission. Pour y remédier, Shao et al. ont mis au point une gamme de nouveaux "rotors"

moléculaires pour détecter la viscosité, préparés par incorporation d'une unité de thiophène dans les rotors moléculaires fluorescents pour accéder aux rotors moléculaires avec une longueur d'onde d'excitation et d'émission décalées vers le rouge, et de plus grands déplacements par rapport aux "rotors" connus. Les nouveaux "rotors" présentent des propriétés photophysiques plus améliorées [49] (**schéma 32**).

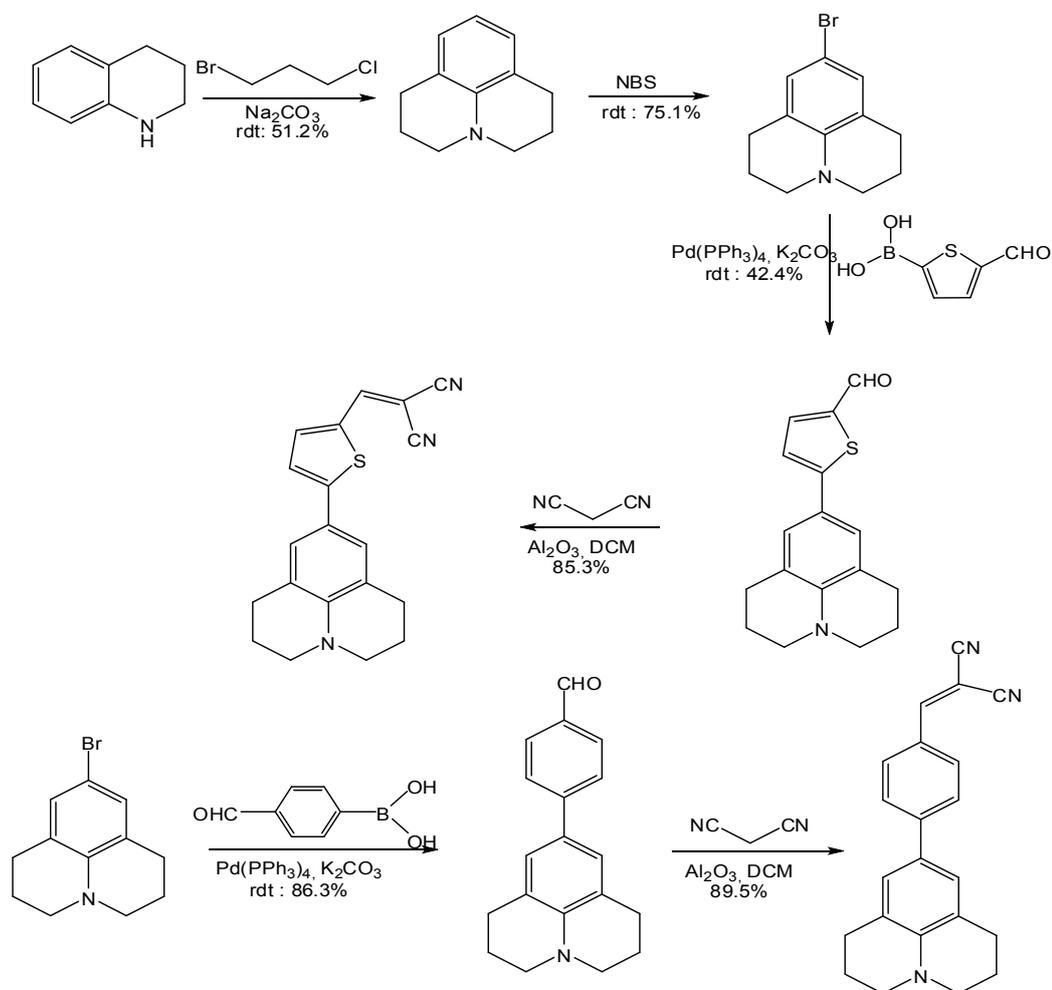


Schéma 32 : Synthèse des nouveaux "rotors" à base de la julolidine

I.3.3. Synthèse efficace d'un jasmonate marqueur fluorescent

Liu et al. ont élaboré un jasmonate (**figure 2**), marqueur fluorescent. Une méthode synthétique efficace a été développée pour cette molécule. Cette sonde fluorescente facilite les études biologiques de jasmonates grâce à l'imagerie fluorescente [50].

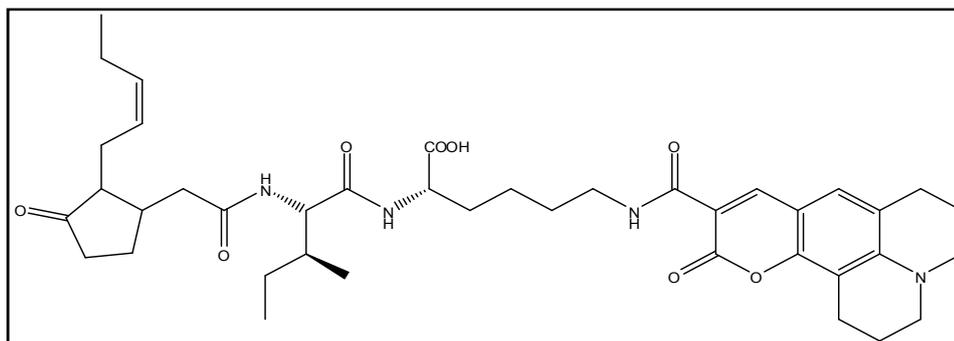


Figure 2 : Structure du jasmonate

I.3.4. Libération photo-induite de neurotransmetteurs par des julolidines coumarines

La libération photo-induite de plusieurs neurotransmetteurs des acides aminés (glycine, alanine, acide glutamique, β -alanine et γ -aminobutyrique) a été réalisée à partir de cages d'ester en fonction d'un nouveau groupe protecteur photoéliminable, constitué par une coumarine liée à un noyau julolidine, nommé (11-oxo-2,3,5,6,7,11-hexahydro-1H-pyrano [2,3-f] pyrido [3,2,1-ij] quinoléine-9-yl)méthyle (**schéma 33**)[51].

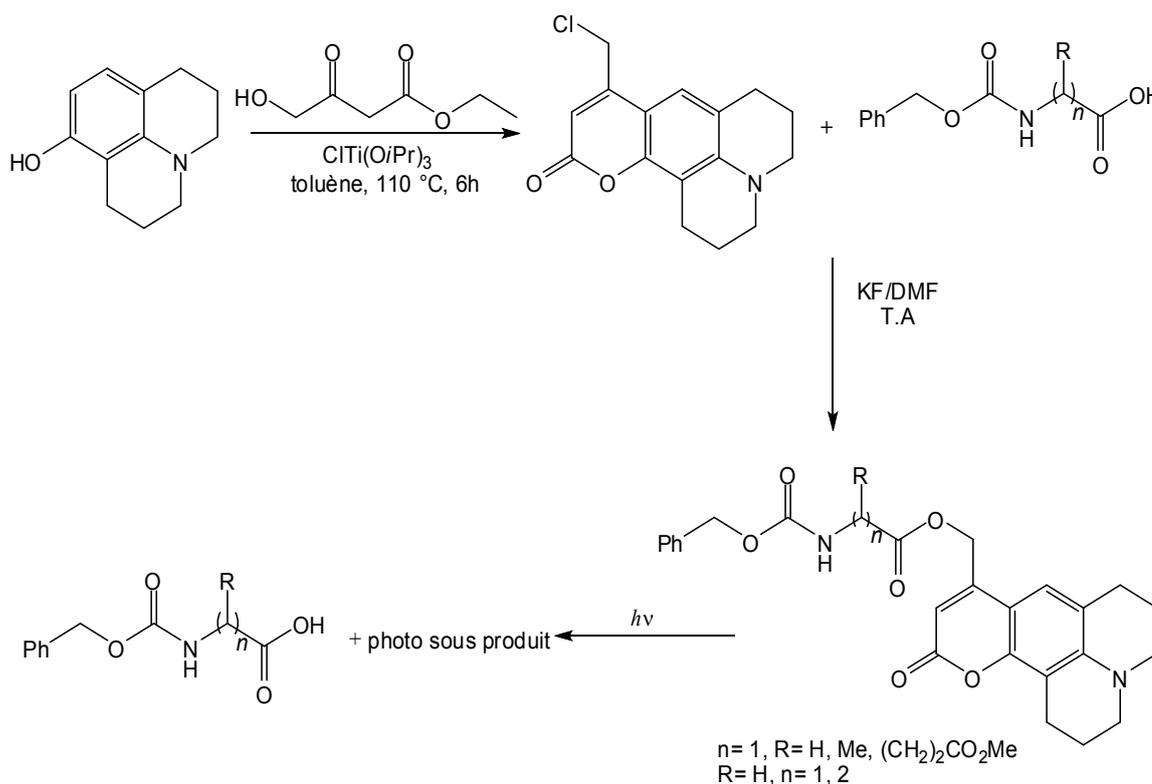


Schéma 33: Synthèse de julolidines coumarines et acides aminés conjugués

I.3.5. Influence de différents colorants organiques à base de julolidine dans les cellules solaires

Le schéma 34 montre la synthèse de deux nouveaux colorants organiques contenant la julolidine comme donneur d'électrons et de l'acide cyanoacétique ou- acide rhodanine 3-acétique comme accepteur d'électrons, ponté par une unité bithiophène. Les propriétés des spectres d'absorption, électrochimiques et photovoltaïques des nouveaux colorants ont été largement étudiés [52].

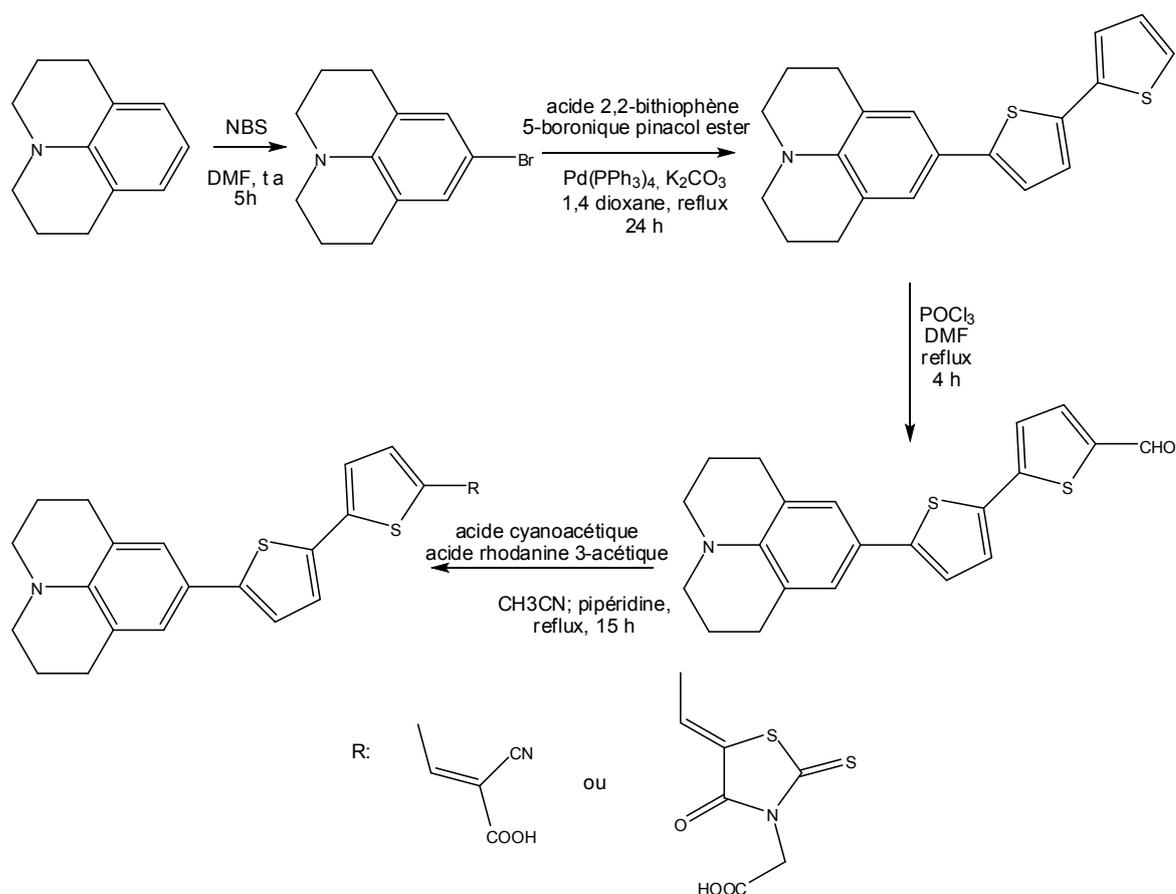


Schéma 34: Synthèse de deux nouveaux colorants organiques à base de la julolidine

I.3.6. Détection simultanée des anions F^- et CN^- par un simple chimiocapteur colorimétrique

Jung et al. ont montré que la julolidine-nitroaniline conjuguée, qui est un chimiocapteur colorimétrique, peut être utilisée dans la détection des ions F^- et CN^- .

Ce capteur peut détecter simultanément deux anions biologiquement importants (F^- et CN^-) par des méthodes colorimétriques. Il expose un changement de couleur distinct du jaune à l'orange lors de l'addition de F^- à travers le processus de déprotonation. En outre, ce

capteur affiche un changement de couleur du jaune à l'incolore, lors de l'addition de CN^- grâce à un mécanisme d'addition nucléophile [53] (**schéma 35**).

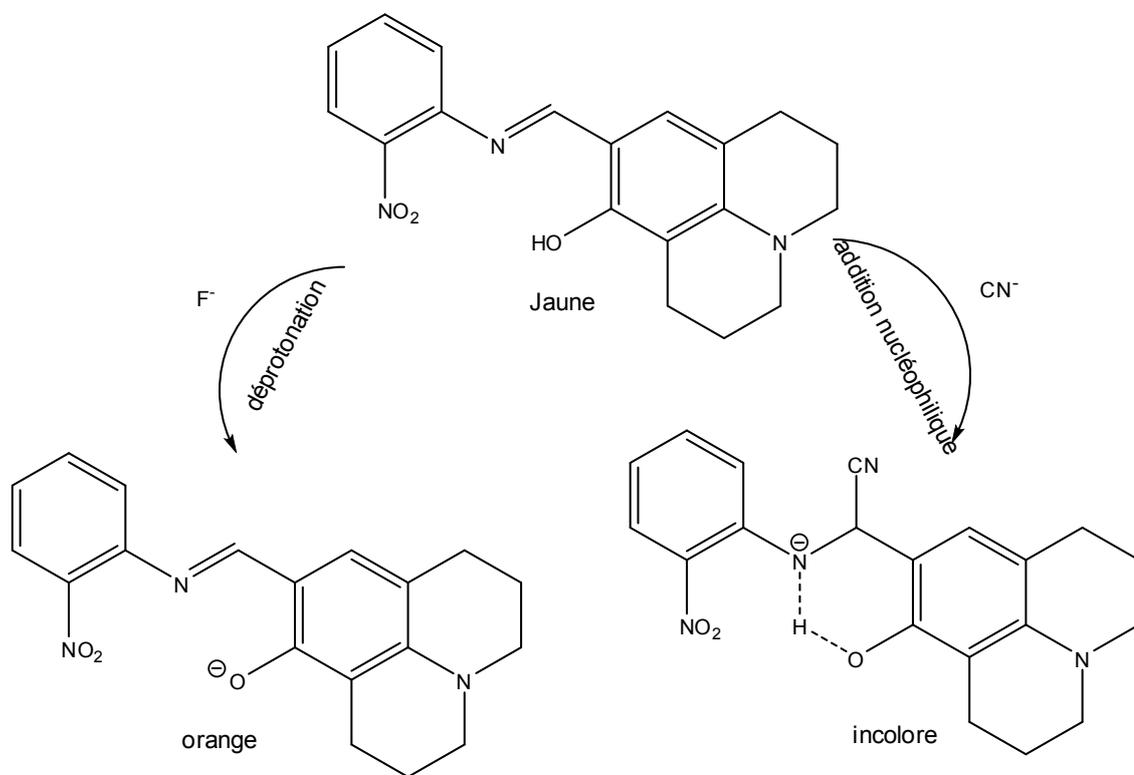


Schéma 35 : Nouvelle méthode pour détecter simultanément les anions F^- et CN^-

CHAPITRE II :
Synthèse de nouveaux dérivés
julolidiniques

II. Introduction

Le chapitre précédent a montré que les processus de transfert d'hydrogène fournit une méthode efficace, d'un point de vue économique autant qu'écologique, en réduisant les sous-produits issus de la réaction par rapport aux méthodes classiques, qui permettent la formation de la liaison carbone-hétéroatome et la liaison carbone-carbone pour accéder à de nouveaux hétérocycles azotés tels que les julolidines.

II. 1. Optimisation des conditions réactionnelles

Dans le but d'optimiser les conditions réactionnelles, afin d'améliorer le rendement de la réaction, pour favoriser la formation de la julolidine et minimiser la formation du produit indésirable, la N-propyltétrahydroquinoléine, plusieurs facteurs ont été étudiés et mis en œuvre tels que le catalyseur, la température, le solvant, le temps et les additifs.

II.1.1. Screening du catalyseur

Dans un premier temps, Achard et al. ont préparé plusieurs complexes du ruthénium et d'iridium [21, 54], incluant trois nouveaux complexes correspondant aux phosphine-sulfonates, phosphine-carboxylates et phosphine-phosphonates. La première transformation a impliqué la génération, *in situ*, d'intermédiaires énamoiminium, qui ont permis la formation de julolidines, par NC-(sp²)-cyclisation de la tétrahydroquinoléine et le propane-1,3-diol. L'influence de l'acidité du ligand indique que les catalyseurs basés de [Cp*Ir^{III}] (Cp*=C₅Me₅) comportant les ligands phosphine-carboxylate et phosphine-sulfonate étaient appropriés pour la cyclisation (**schéma 36**).

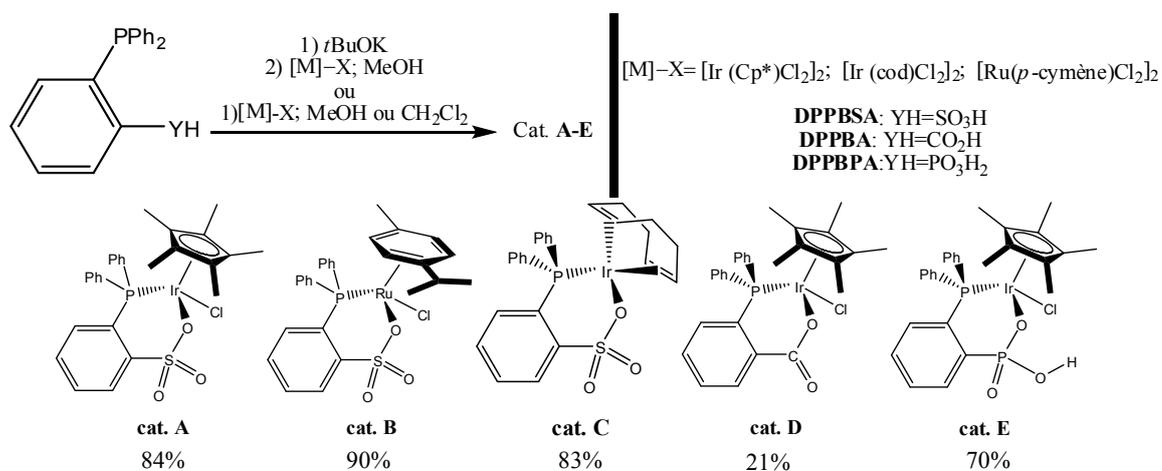


Schéma 36 : Différents catalyseurs utilisés dans la réaction de la tétrahydroquinoléine avec le propane-1,3-diol.

Nous avons étudié l'effet du catalyseur sur le rendement de la réaction, en mélangeant 1 éq. de la tétrahydroquinoléine **1a** avec 2 éq. de propane-1,3-diol **2a** dans le toluène (**schéma 37**).

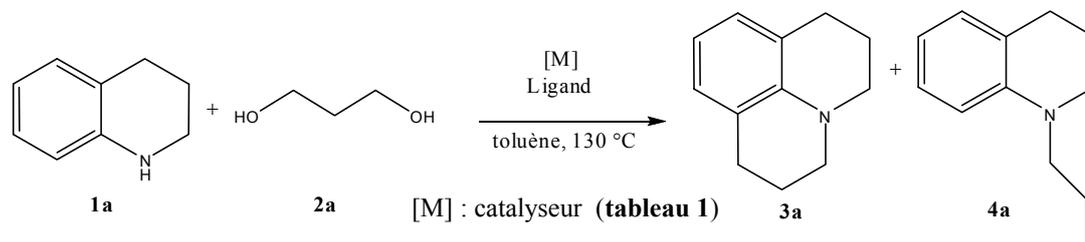


Schéma 37 : Screening du catalyseur

Afin d'augmenter les chances de découvrir le meilleur catalyseur, il est utile de cribler plusieurs combinaisons de catalyseurs (**tableau 1**)

Tableau 1: Effet du catalyseur sur la réaction de la tétrahydroquinoléine **1a** avec le propane-1,3-diol **2a**

Entrée	1a Éq.	2a Éq.	Catalyseur [M] Ligand	Ratio 3a/4a	Conv. (%)	Rdt. GC (%)
1	2	1	A-[Ir(Cp*)PSOCl] (2.5 mol %)	61/39	87	43
2	2	1	B-[Ru(<i>p</i> -Cymène)PSOCl] (2.5 mol%)	85/15	53	25
3	2	1	C-[Ir(COD)PSO] (2 mol%)	50/50	25	15
4	2	1	D-[Ir(Cp*)PCOCl] (2 mol%)	92/08	85	77
5	2	1	E-[Ir(Cp*)P ₂ O ₃ H]	60/40	99	52
6	2	1	[Ir(Cp*)Cl ₂] ₂ (1 mol %) DPPBSA (2 mol %)	85/15	82	67
7	2	1	[Ir(Cp*)Cl ₂] ₂ (1 mol %) DPPBA (2 mol %)	85/15	95	80
8	2	1	[Ir(Cp*)Cl ₂] ₂ (0.5 mol %) DPPBSA (1 mol %)	75/25	99	70
9	2	1	[Ir(Cp*)Cl ₂] ₂ (0.5 mol %) DPPBA (1 mol %)	91/09	82	71

Ordre d'addition: 1. la tétrahydroquinoléine, 2. le propane-1,3-diol, 3. le toluène, 4. le catalyseur.

Le catalyseur **A** a été trouvé actif dans cette nouvelle N, C (sp²)-dialkylation de **1a** avec **2a** pour donner **3a**. Cependant, un rendement modeste de 43% a été obtenu lors de nos essais initiaux (**tableau 1**, entrée 1). L'analyse du mélange réactionnel a mis en évidence la formation de la N-propyltétrahydroquinoléine **4a** avec un ratio de 61:39 de

3a/4a [55, 56]. Le complexe **D** donne une conversion similaire, mais une amélioration du ratio **3a/4a** à 92:08 et le **3a** a été obtenu avec un rendement de 77% (**tableau 1**, entrée 4). Le complexe **E** donne une conversion presque totale, un rendement GC modeste mais avec un ratio moins important (**tableau 1**, entrée 5). Le complexe **B** a donné une conversion modeste de 53% avec un bon ratio mais un faible rendement GC (**tableau 1**, entrée 2). Un faible taux de conversion a également été observé en présence du complexe **C** (**tableau 1**, entrée 3).

Les catalyseurs $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{PCOCl}]$ et $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{PSOCl}]$, générés *in situ*, en mélangeant le $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ et DPPBA ou $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ et DPPBSA (entrées 6-9) ont donné le taux de conversion et de rendement GC les plus élevés, le complexe, généré *in situ*, obtenu par le traitement en $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ avec DPPBA a donné le produit désiré avec un ratio de 85/15 et un rendement GC de 80% (**tableau 1**, entrée 7). En diminuant le nombre de mole du complexe, on a obtenu un ratio de 91/09 avec une conversion et un rendement GC moins bons que l'entrée 7 (**tableau 1**, entrée 9).

La **figure 3** montre les structures aux rayons X des nouveaux complexes **C**, **D** et **E** et la comparaison des longueurs de liaison concernées. (Les atomes d'hydrogène et les solvants ont été omis pour plus de clarté).

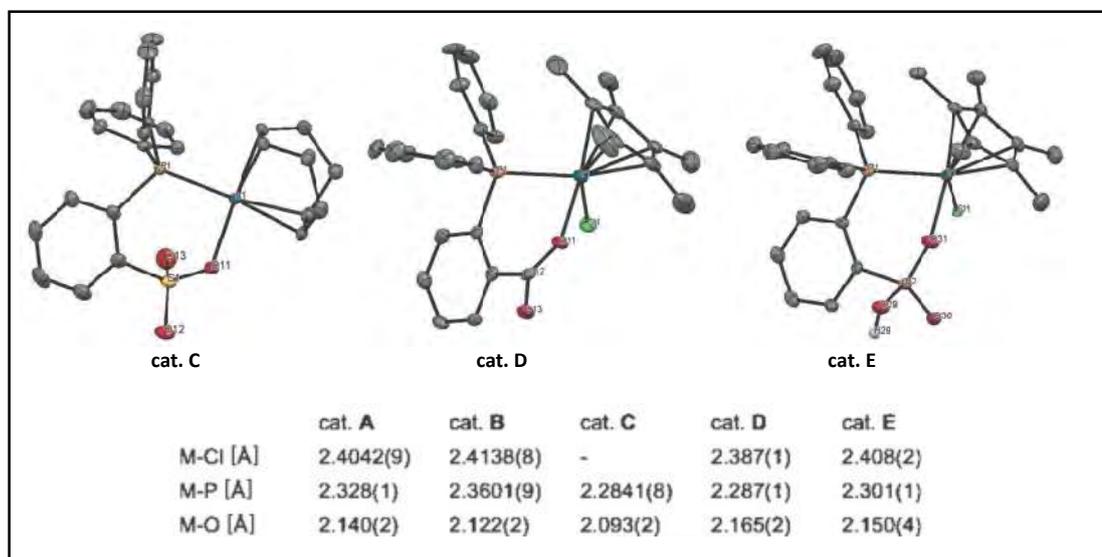


Figure 3 : Rayons X de nouveaux complexes C, D, E

II.1.2. Influence de la température

L'effet de la température sur le rendement de la réaction est résumé dans le **tableau 2**. Afin d'avoir des conditions douces pour la réaction (**schéma 38**), nous avons testé

plusieurs température avec plusieurs concentration de la tétrahydroquinoléine **1a** et le propane-1,3-diol **2a** en présence du catalyseur $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{PCOCl}]$, préparé *in situ*.

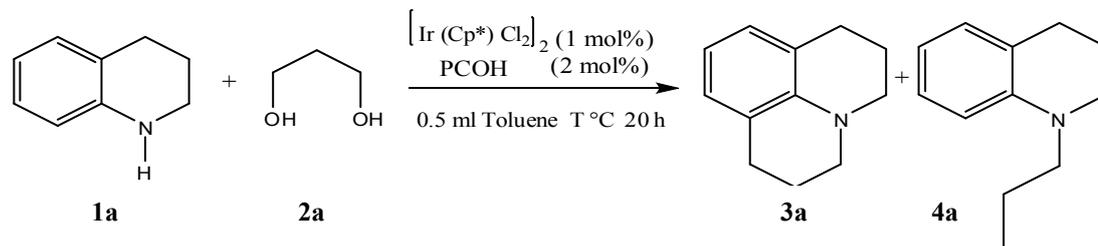


Schéma 38 : Influence de la température

Tableau 2: Influence de la température sur le rendement de la réaction

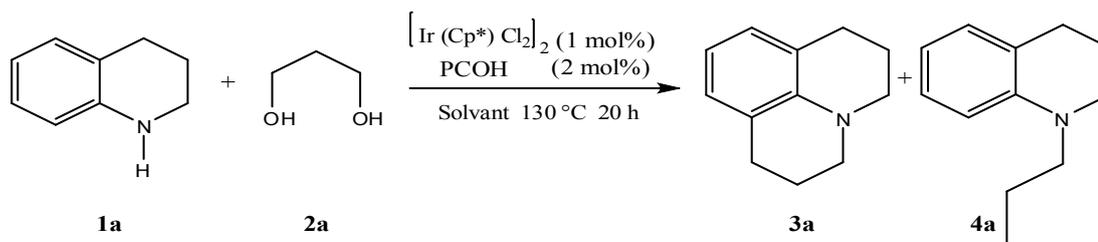
Entrée	1a	2a	T°C	Ratio 3a/4a	Conv. (%)	Rdt. GC (%)
1	2	1	100	80/20	90	48
2	1	2	100	20/80	0.5	8
3	2	1	120	80/20	99	45
4	2	1	130	85/15	95	80
5	1	1	135	60/40	99	45
6	1	1	140	62/38	93	62
8	2	1	150	80/20	99	84

Ordre d'addition: 1. la tétrahydroquinoléine, 2. le propane-1,3-diol, 3. le toluène, 4. le catalyseur.

Le **tableau 2** montre qu'il y a une corrélation positive entre le rendement de la réaction et la température, ainsi que pour le nombre d'équivalents des produits de départ, on constate qu'aucune conversion n'a été observée à $T = 100^\circ\text{C}$ avec un excès de **2a** (**tableau 2**, entrée 2). A la même température, la conversion est de 90 %, en changeant le limitant avec un excès de **1a**. A $T = 130^\circ\text{C}$, avec un excès de la tétrahydroquinoléine, la conversion est à 95% avec le meilleur rendement GC et ratio entre **3a** et **4a** (**tableau 2**, entrée 4). En augmentant la température à 150°C , la conversion est toujours presque totale mais le ratio est moins important (**tableau 2**, entrée 8).

II.1.3. Influence du solvant

Après avoir examiné l'influence de la température sur le rendement de la réaction qui a été fixée à 130°C comme température optimale, l'influence du solvant a également été étudiée (**tableau 3**).

**Tableau 3 :** Influence du solvant sur le rendement de la réaction

Entrée	1a éq.	2b éq.	Solvant (mL)	Ratio 3a/4a	Conv. (%)	Rdt. GC (%)
1	2	1	Toluène (0.5)	85/15	95	80
2	2	1	Toluène (0.8)	85/15	99	68
3	2	1	Toluène (1.5)	75/25	99	62
4	2	1	Toluène (2)	70/30	99	62
5	2	1	THF (0.8)	90/10	88	75

Le **tableau 3** montre que l'augmentation du volume de toluène améliore la conversion, mais le rendement GC est diminué ainsi que le ratio (**tableau 3**, entrées 1, 2, 3, 4). En revanche l'utilisation du THF a augmenté le ratio **3a/4a** et une diminution de la conversion et du rendement GC a été observée.

II.1.4. Influence des additifs

Tableau 4 : Effet des additifs sur le rendement de la réaction

Les additifs n'ont montré aucun effet sur la réaction (**tableau 4**)

Entrée	Additif	Conv. (%)	Rdt. GC (%)
1	K ₂ CO ₃ (4 mol %)	0	0
2	Na ₂ CO ₃ (2 mol %)	0	0

II.1.5. Influence du temps de la réaction

Le **tableau 5** montre que l'augmentation de la durée de la réaction à 36 h améliore la conversion jusqu'à 99% et donne un rendement isolé de 80% (entrée 2).

Notamment, les réactions ont également été réalisées à l'échelle du gramme et les ratios et les rendements similaires ont été observés.

La réaction du 2-méthylpropane-1,3-diol **2b**, catalysée par $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ avec le DPPBA, a donné la julolidine attendue **3b** avec un rendement de 78% et 5% de N-isobutyltétrahydroquinoléine (**schéma 40**). Dans le cas du butane-1,3-diol **2c**, un substrat plus difficile, la formation compétitive des ions iminium et kétiminium résultant de la condensation de l'aldéhyde et de la cétone respectivement, a conduit aux julolidines **3c** et **3d** avec des rendements de 5%, et 23% respectivement. Cependant, les processus de déshydratation sont devenus la voie principale et les produits indésirables de N-alkylation ont été obtenus avec un rendement de 40%. La formation favorisée de **3d** + **4d** par rapport à celle de **3c** + **4c** a révélé la formation sélective de l'ion iminium (**schéma 40**).

II. 3. Mécanisme réactionnel de formation de la julolidine **3a** et de la N-propyltétrahydroquinoline **4a**

Le **schéma 41** montre la formation de **3a** et **4a** en présence du catalyseur, préparé *in situ*. L'activation du propane-1,3-diol par une déshydrogénation suivie d'une condensation en présence de l'amine **1a** donne l'iminium **I**. La déprotonation de ce dernier conduit à l'alcool énamino **II**. Dans la voie **I** et en fonction de l'acidité du ligand coordonné à l'iridium, l'intermédiaire **II** peut subir une protonation en présence d'une espèce catalytique acide pour former l'ion iminium exocyclique α,β -insaturé **IV**, après la perte d'une molécule d'eau. Ensuite, la réduction de l'espèce métallique d'hydrure généré, se déprotonne donnant le produit secondaire **4a**. D'autre part, un excès de l'amine **1a** avec les espèces moins acides résultants du cat. **A** et cat. **D** (selon la voie **II**), l'intermédiaire clé **II** qui subit une déshydrogénation et une condensation pourrait donner l'ion énaminoiminium **V** comme intermédiaire clé du Povarov [57-59]. Par conséquent, une électrocyclisation suivie par une protonation de **1a** conduit à l'ion iminium endocyclique α,β -insaturé **VI**. Enfin, une réduction, une protonation et une réduction donnent la julolidine désirée **3a**. Cette voie a tendance à expliquer la formation concurrentielle de **3c** et **3d**, au cours de la réaction avec **2c**. Cependant, nous ne pouvons pas totalement exclure la formation de **3a** résultant d'une alkylation successive à travers l'autotransfert d'hydrogène (voie **III**). La formation de **4a** est le résultat des procédés de déshydratation/isomérisation à partir du diol **1a** pour donner le propanal, ce qui est expliqué par la formation de **4a** [60].

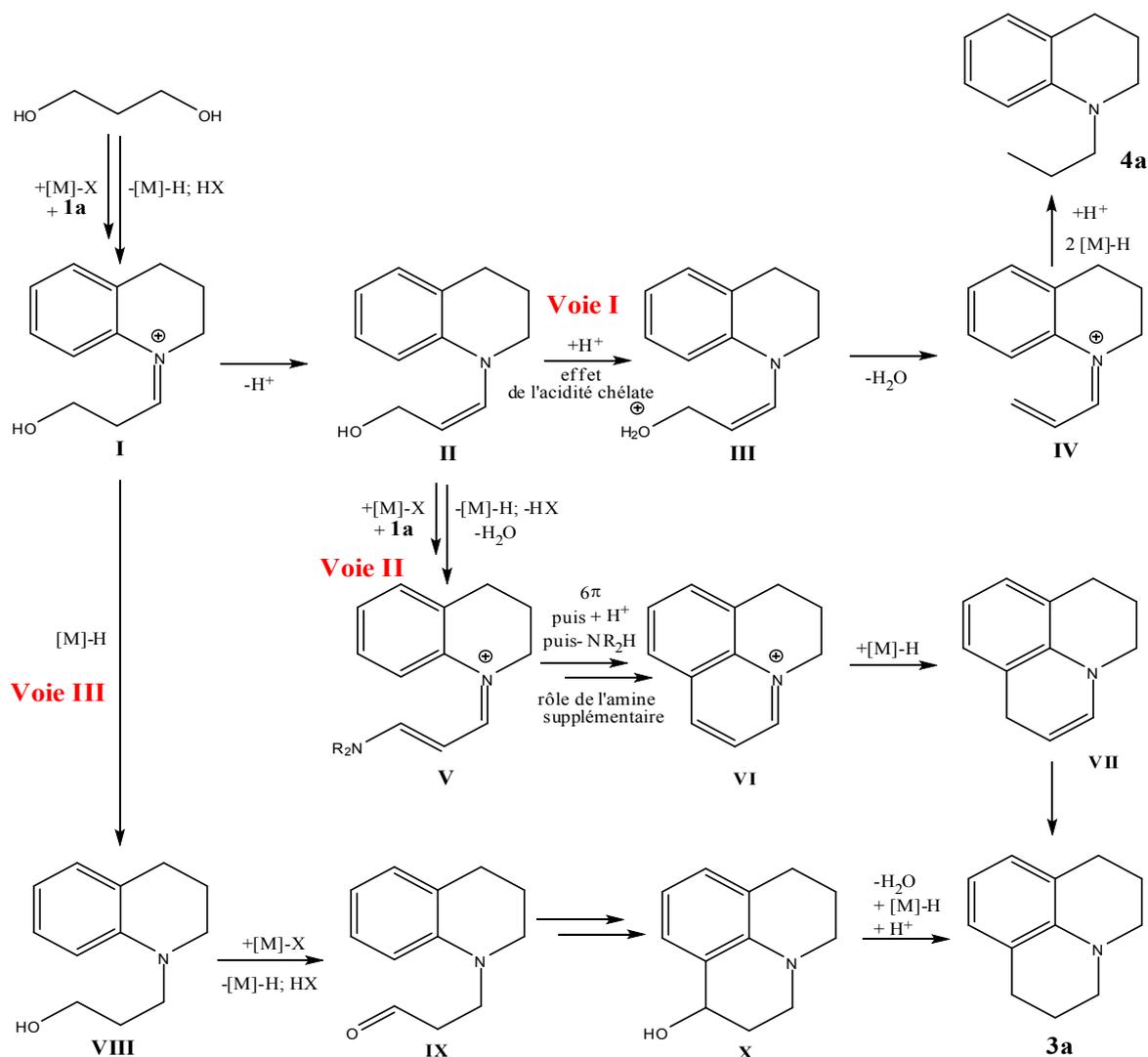


Schéma 41: Intermédiaires proposés pour la formation de 3a et 4a

Pour distinguer entre les trois voies proposées, nous avons fait réagir le 2,2-diméthylpropane-1,3-diol, ne pouvant pas conduire à l'alcool énaminé clé de type II. Dans ce cas, l'alcool aminé non cyclisé correspondant a été principalement formé, alors que la 2,2-diméthyljulolidine n'a été détecté que par une analyse par GC-MS et qui a été formé avec un rendement <1% (schéma 42). Ce résultat suggère la nécessité de l'énaminoiminium V pour assurer la cyclisation pour former l'ion iminium endocyclique α , β -insaturé VI, ce qui confirme que la voie II est la plus fiable pour la formation de la julolidine 3. Cette transformation globale complète les cyclisations traditionnelles de Povarov qui nécessitent des diénophiles donneurs d'électrons [57].

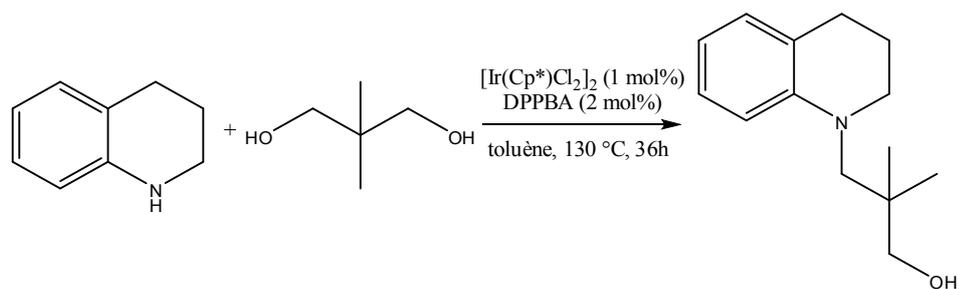


Schéma 42: Réaction du 2,2-diméthylpropane-1,3-diol avec la tétrahydroquinoléine

II.4. β -alkylation de julolidines 3

La synthèse de julolidines par autotransfert d'hydrogène est une méthode rare pour cela, nous avons considéré que les julolidines synthétisées peuvent subir des post-fonctionnalisations à travers l'autotransfert d'hydrogène en présence d'électrophile tels que les aldéhydes par une β -alkylation. Les julolidines ont des propriétés chromophores en tant que donneurs d'électrons. Par conséquent, le site hautement nucléophile à C9 ajoute un autre défi pour la transformation ciblée (**schéma 43**).

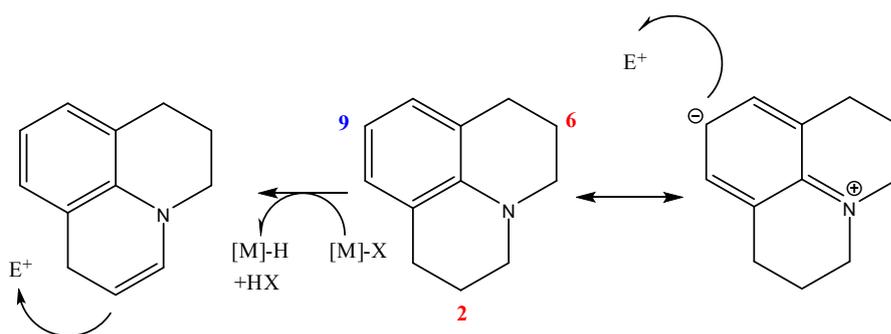
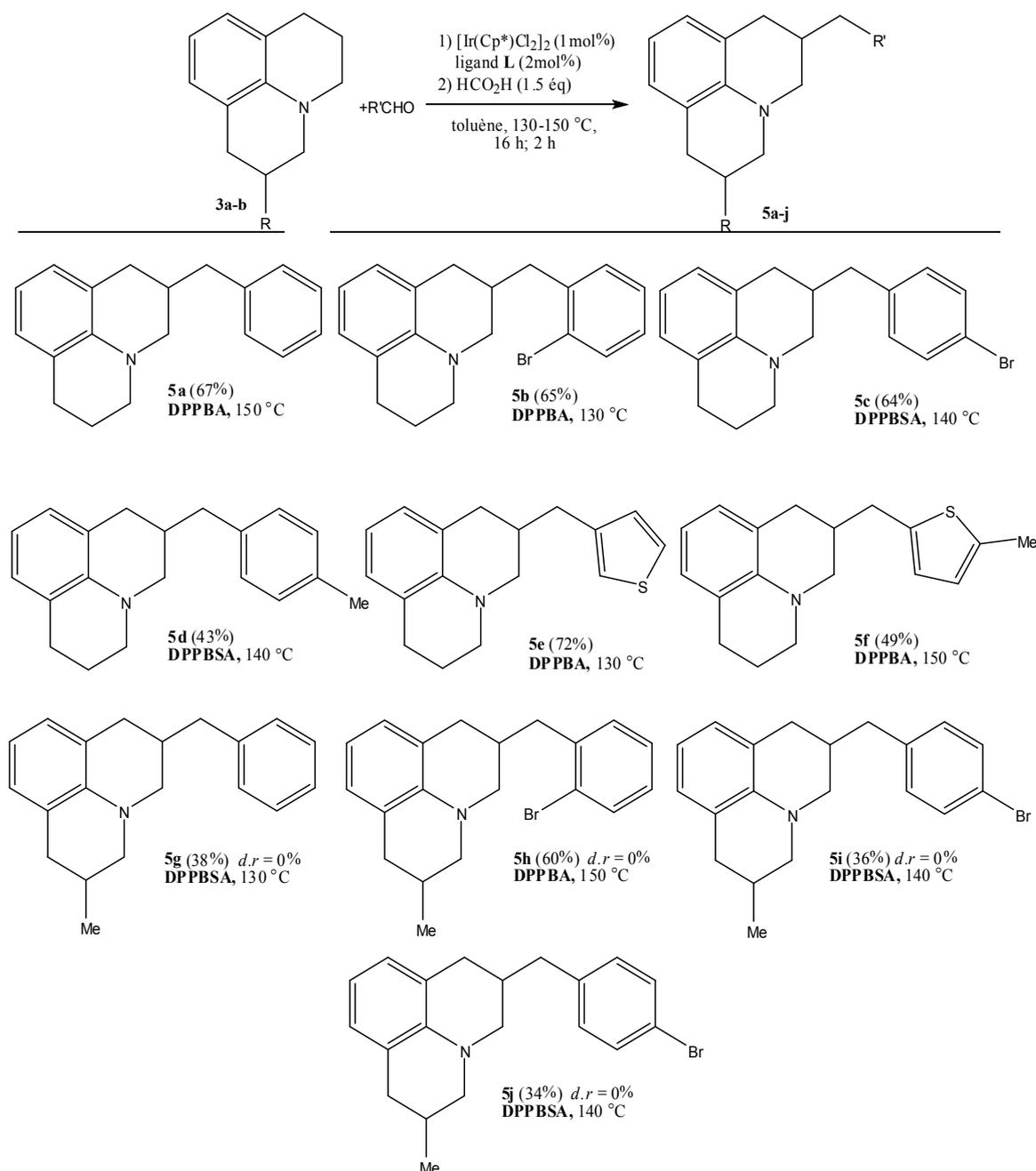


Schéma 43: Voies d'alkylation compétitives

L'utilisation de différents ligands phosphorés tels que le phosphinocarboxylate DPPBA et le phosphinosulfonate DPPBSA a permis une C- β -fonctionnalisation des julolidines attendues avec divers aldéhydes qui agissant comme des électrophiles [21] (**schéma 44**).

Schéma 44 : Composés obtenus par β -alkylation de julolidines **3**

La réaction du benzaldéhyde avec **3a** a donné **5a** avec un rendement de 67% en présence de l'acide formique (pour obtenir une réduction finale). Le *p*-méthylbenzaldéhyde a parfaitement réagi pour donner **5d** avec un rendement de 43%. Les *o*- et *p*-bromobenzaldéhyde ont donné des julolidines halogénées **5b** et **5c** avec des rendements de 65 et 64%, respectivement. La RMN ^1H a permis de confirmer la formation de la julolidine accédant au dérivé **5c** où le spectre RMN ^1H (figure 4) permet d'observer de nouveaux signaux correspondant au groupement *p*- bromobenzyle comme suit :

- ✓ deux doublets déblindés d'intégration 2H chacun apparaissent à $\delta_H = 7.43$ ppm ($J = 8.0$ Hz) et à $\delta_H = 7.07$ ppm ($J = 8.0$ Hz) correspondant aux protons H_{17} , H_{19} et H_{16} , H_{20} .
- ✓ un multiplet d'intégration 2H à $\delta_H = 2.82$ - 2.76 ppm correspondant au proton H_{14} .
- ✓ on observe l'apparition d'un multiplet d'intégration 1H à $\delta_H = 2.29$ - 2.26 ppm correspondant au proton H_2 .

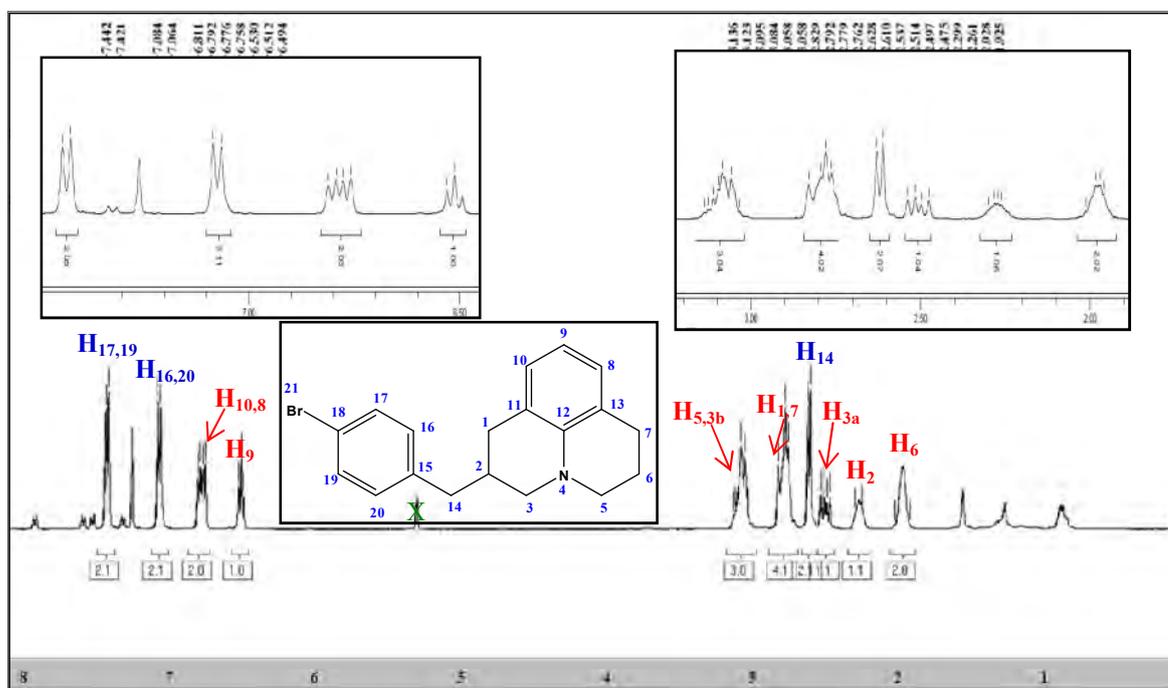


Figure 4: Spectre RMN ^1H du composé **5c** (400 MHz, CDCl_3)

Le spectre de RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5c** (**figure 5**) permet d'observer des signaux correspondants à 19 atomes de carbone ($\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NBr}$) dont 7 appartient au groupement *p*-bromobenzyl apparaissant comme suit :

- ✓ deux carbones quaternaires résonant à $\delta_C = 138.2$ ppm, à $\delta_C = 118.7$ ppm correspondant respectivement aux carbones C_{15} et C_{18} .
- ✓ deux pics ($\text{CH} \uparrow$) dont le premier résonne à $\delta_C = 130.3$ ppm correspondant aux carbones C_{16} et C_{20} et l'autre apparaissant à $\delta_C = 129.7$ ppm correspondant aux carbones C_{17} et C_{19} .
- ✓ un pic ($\text{CH}_2 \downarrow$) résonne à $\delta_C = 38.3$ ppm correspondant au carbone C_{14} .

Il faut signaler que le déplacement déblindé du carbone 2 qui apparait à 32.8 ppm est dû à la liaison avec le groupement *p*-bromobenzyle.

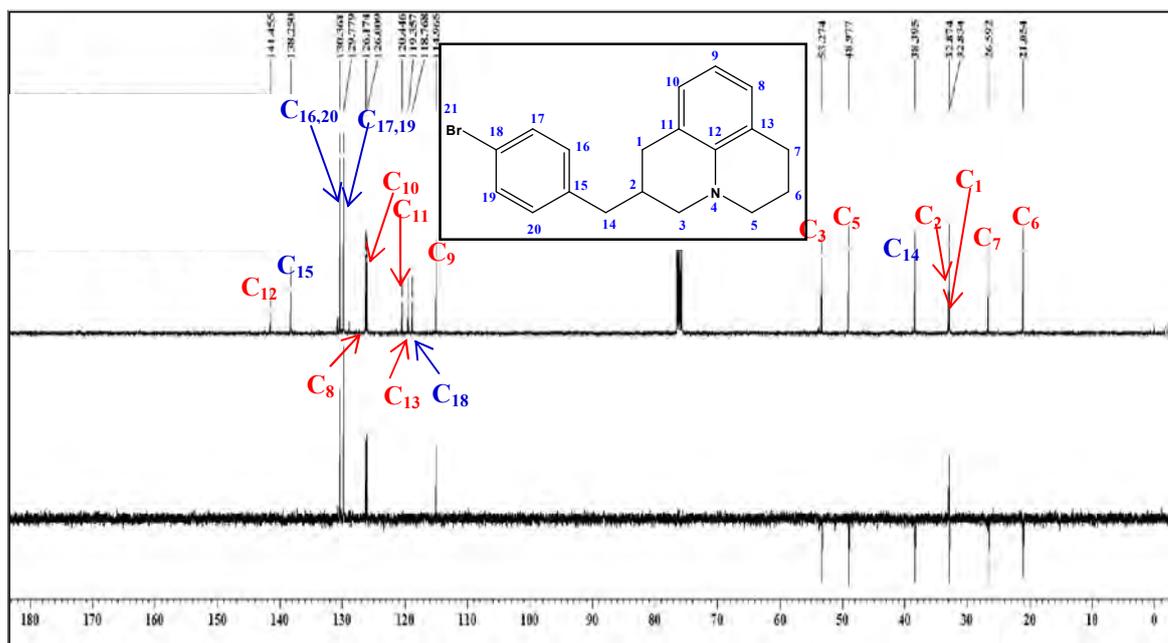


Figure 5: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5c** (100 MHz, CDCl_3)

L'utilisation des thiophènes carboxaldéhydes a donné un bon rendement des produits **5e** et **5f** pouvant aller jusqu'à 72%. La RMN ^1H a permis de confirmer la formation de la julolidine accédant au dérivé **5f** où le spectre RMN ^1H (**figure 6**) permet d'observer de nouveaux signaux correspondant au groupement thiophène substitué comme suit :

- ✓ un singulet large d'intégration 2H apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 6.58$ ppm correspondant aux protons H_{18} et H_{19} .
- ✓ un multiplet d'intégration 2H résonne à $\delta_{\text{H}} = 2.82\text{-}2.90$ ppm correspondant au proton H_{14} .
- ✓ un singulet d'intégration 3H apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 2.46$ ppm correspondant au groupement méthyle H_{20} .
- ✓ on observe l'apparition d'un multiplet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 2.35\text{-}2.24$ ppm correspondant au proton H_2 .

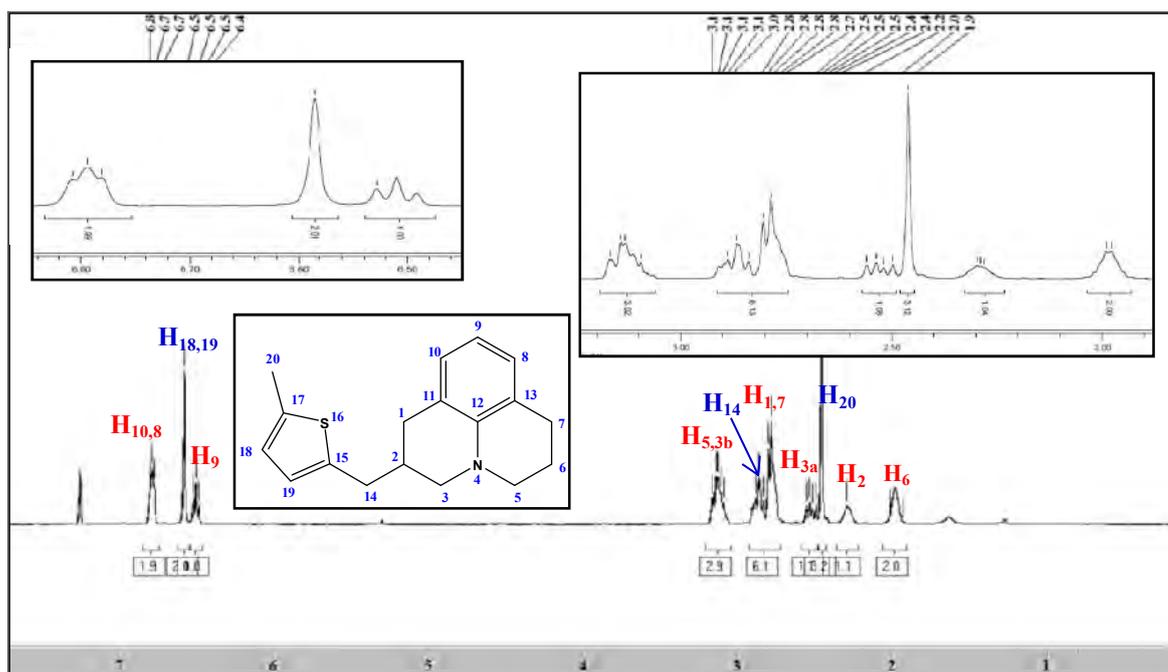


Figure 6: Spectre RMN ^1H du composé **5f** (400 MHz, CDCl_3)

Le spectre de RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5f** (figure 7) permet d'observer des signaux correspondants à 17 atomes de carbone ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NS}$) dont 6 appartient au groupement thiophène substitué apparaissant comme suit :

- ✓ deux carbones quaternaires résonnent à $\delta_{\text{C}} = 139.5$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 136.7$ ppm, correspondant respectivement aux carbones C_{15} et C_{17} .
- ✓ deux carbones ($\text{CH}\downarrow$) le premier résonne à $\delta_{\text{C}} = 123.9$ ppm correspondant à C_{19} et le deuxième apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 123.6$ ppm correspondant au carbone C_{18} .
- ✓ un pic ($\text{CH}_2\uparrow$) résonne à $\delta_{\text{C}} = 32.7$ ppm correspondant au carbone éthylénique C_{14} .
- ✓ un pic ($\text{CH}_3\downarrow$) apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 14.2$ ppm correspondant au carbone C_{20} .

Il faut signaler que le déplacement déblindé du carbone 2 qui apparaît à 33.3 ppm est dû à la liaison avec le groupement 2,5-méthylthiophényle.

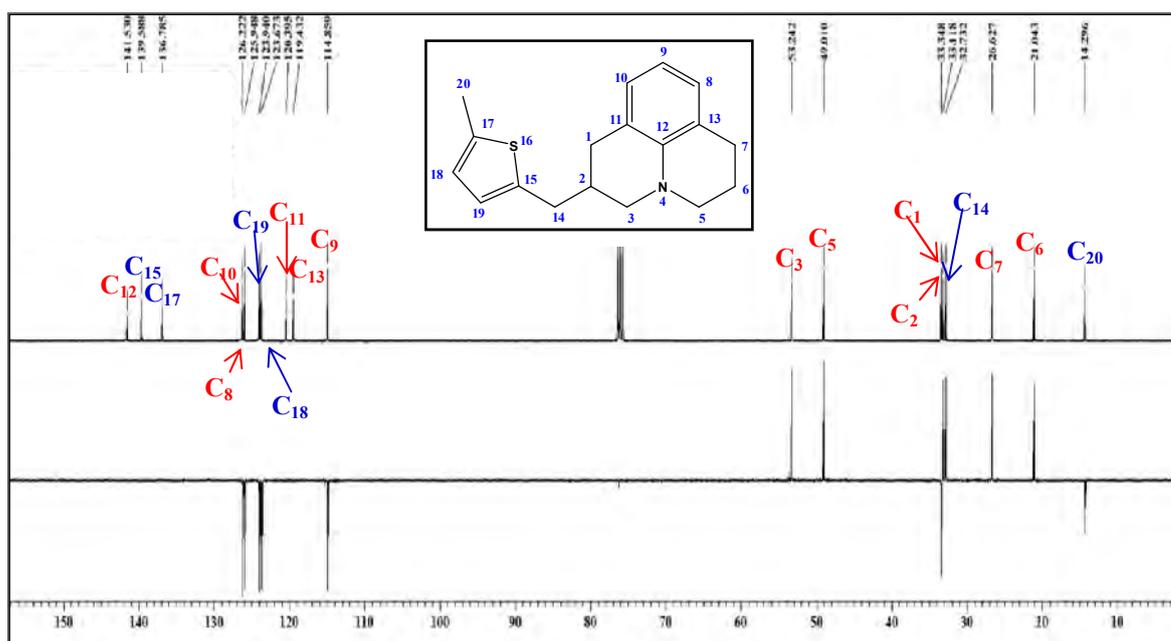


Figure 7: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5f** (100 MHz, CDCl_3)

Le schéma 44 montre que l'utilisation de la méthyljulolidine substituée **3b** conduit à la formation de deux isomères (pas de diastéréosélectivité), qui donne des produits disubstitués (**5g**, **5h**, **5i**, **5j**) avec des rendements de 34% à 60%. Cette méthode ouvre de nouvelles perspectives de transformations de julolidines par des réactions de couplage croisé précatalysées. La RMN ^1H a permis de confirmer la formation de la julolidine accédant au dérivé **5g** où le spectre RMN ^1H (figure 8) permet d'observer de nouveaux signaux correspondant au groupement benzyle comme suit :

- ✓ deux multiplets le premier d'intégration 2H résonne à $\delta_{\text{H}} = 7.31\text{-}7.28$ ppm correspondant aux protons H_{16} et H_{20} et l'autre d'intégration 3H apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 7.23\text{-}7.17$ ppm correspondant aux protons H_{17} , H_{18} et H_{19} .
- ✓ un multiplet d'intégration 2H à apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 2.65\text{-}2.70$ ppm correspondant au proton H_{14} .
- ✓ on observe l'apparition d'un multiplet d'intégration 1H chacun, résonne à $\delta_{\text{H}} = 2.17\text{-}2.09$ ppm correspondant au proton H_2 .

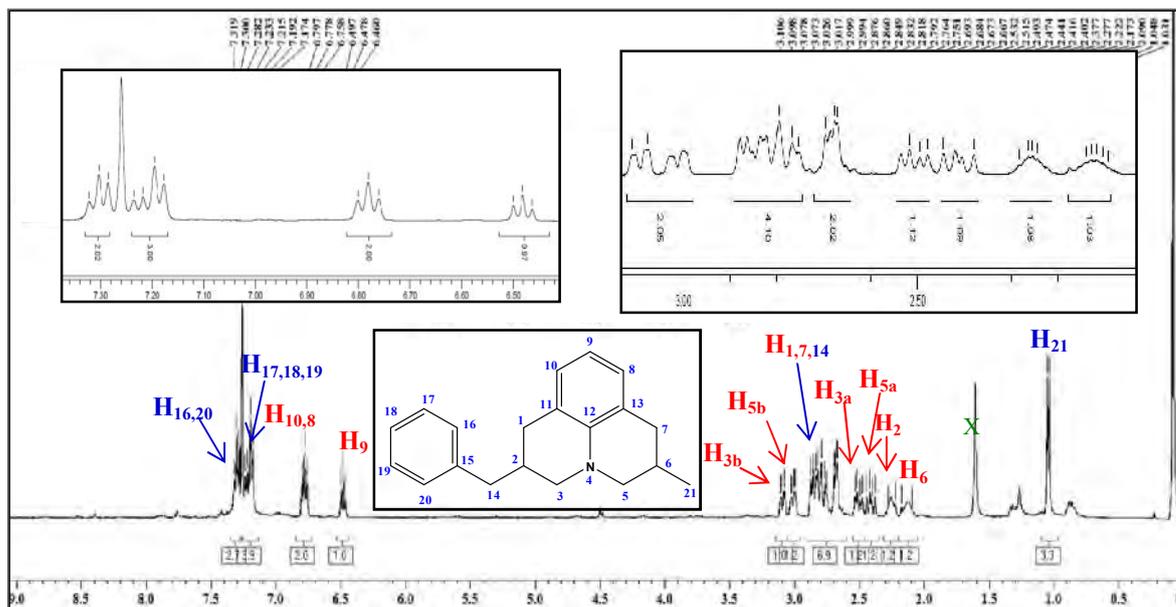


Figure 8: Spectre RMN ^1H du composé **5g** (400 MHz, CDCl_3)

Le spectre de RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5g** (figure 9) permet d'observer des signaux correspondant à 20 atomes de carbone $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}$ dont 7 appartient au groupement benzyle apparaissant comme suit :

- ✓ un carbone quaternaire résonne à $\delta_{\text{C}} = 140.6$ ppm correspondant au carbone C_{15} .
- ✓ trois pics ($\text{CH} \uparrow$) apparaissent à $\delta_{\text{C}} = 129.0$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 128.2$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 127.1$ ppm correspondant aux carbones C_{16} et C_{20} , C_{17} et C_{19} et le carbone C_{18} .
- ✓ un pic ($\text{CH}_2 \downarrow$) résonne à $\delta_{\text{C}} = 36.0$ ppm correspondant au carbone C_{14} .

Il faut signaler que le déplacement déblindé du carbone 2 qui apparaît à 33.7 ppm est dû à la liaison avec le groupement benzyle.

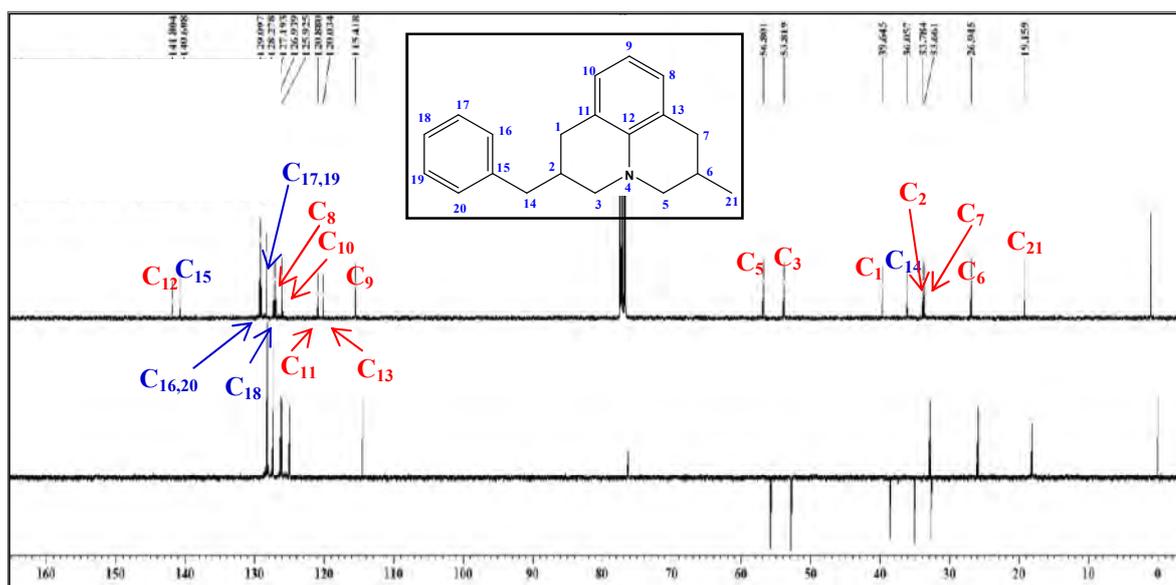


Figure 9: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5g** (100 MHz, CDCl_3)

II.5. C9-alkylation de la julolidine **3a**

Le traitement du 2-furfural avec la julolidine **3a** a donné un mélange de deux produits un C2-β-alkylé et un C9-alkylé (détectés par GC-MS). Ces analyses ont révélé la formation de la C9-alkylé **6b** avec un rendement de 20% (schéma 45). L'utilisation de glyoxylate d'éthyle favorise la formation du produit C9-alkylé **6a**, ce qui met en évidence que les aldéhydes comportant une atome d'oxygène de coordination dans la position α favorisent les produits de type Friedel-Craft. Ces résultats nous éclairent plus sur l'accès à de julolidines C9-alkylées grâce à des processus du transfert d'hydrogène.

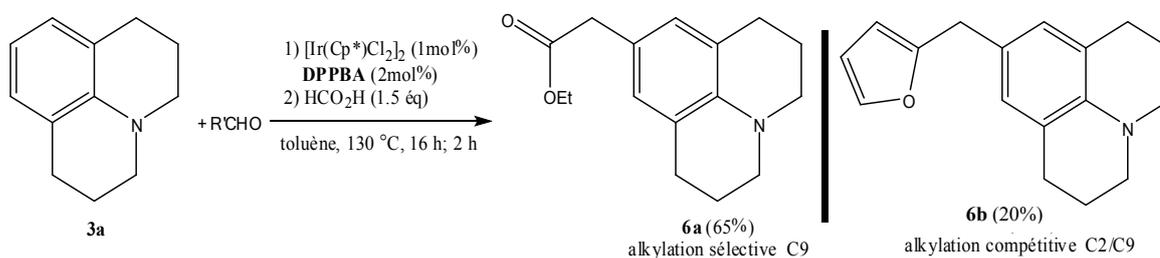


Schéma 45 : C9-alkylation de la julolidine **3a**

La RMN ^1H a permis de confirmer la formation de la julolidine accédant au dérivé **6a** où le spectre RMN ^1H (figure 10) permet d'observer de nouveaux signaux correspondant au groupement acétoéthyle lié au noyau aromatique de la julolidine en C-9 comme suit :

- ✓ un quadruplet d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 4.12$ ppm ($J = 7.0$ Hz) correspondant à H_{17} .
- ✓ un singulet d'intégration 2H apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 3.40$ ppm correspondant au proton H_{14} .
- ✓ un triplet d'intégration 3H résonne à $\delta_{\text{H}} = 1.25$ ppm ($J = 7.0$ Hz) correspondant à H_{18} .

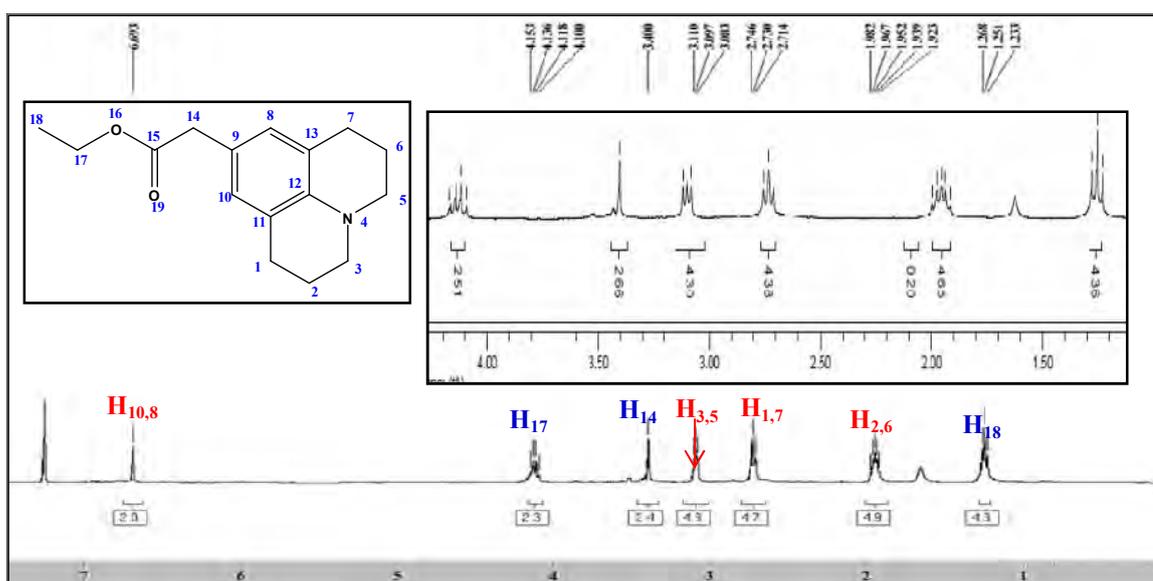


Figure 10: Spectre RMN ^1H du composé **6a** (300 MHz, CDCl_3)

Le spectre de RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **6a** (**figure 11**) permet d'observer des signaux correspondants à 16 atomes de carbone ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2$) dont 4 appartient au groupement acétoéthyle apparaissant comme suit :

- ✓ deux carbones quaternaires dont un est plus déblindé, résonne à $\delta_{\text{C}} = 171.5$ ppm correspondant à C_{15} l'autre apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 120.0$ ppm correspondant au carbone C_9 .
- ✓ deux carbones éthyléniques ($\text{CH}_2\downarrow$), le premier résonne à $\delta_{\text{C}} = 59.5$ ppm correspondant au carbone C_{17} et l'autre apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 39.4$ ppm correspondant au carbone C_{14} .
- ✓ un pic ($\text{CH}_3\uparrow$) à $\delta_{\text{C}} = 13.2$ ppm correspondant au carbone C_{18} .

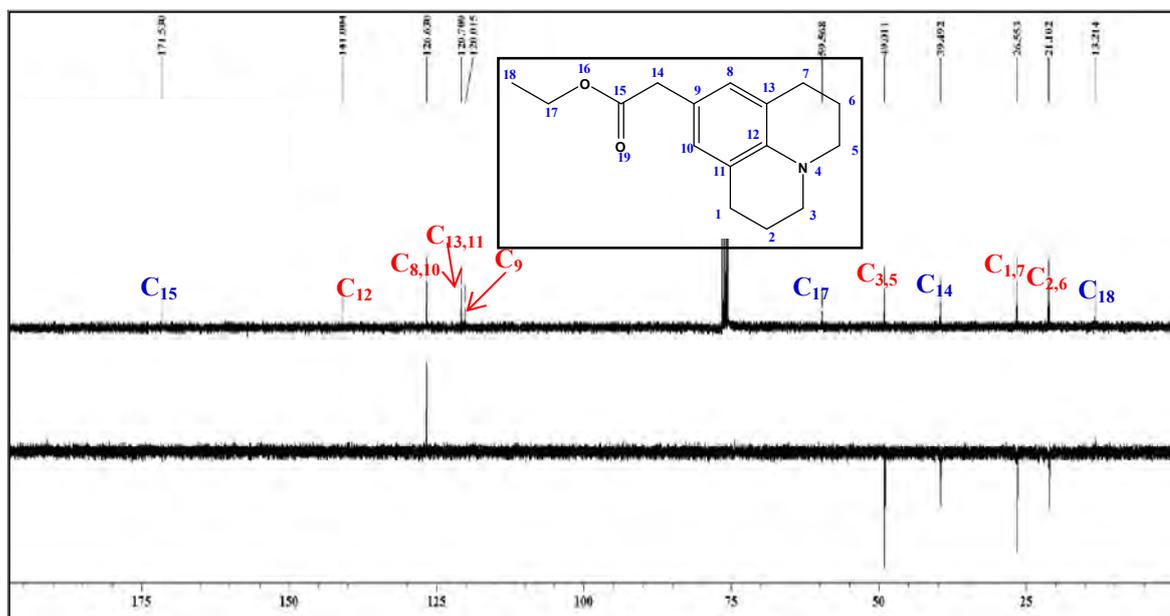


Figure 11 : Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **6a** (75 MHz, CDCl_3)

La RMN ^1H a permis de confirmer la formation de la julolidine accédant au dérivé **6b** où le spectre RMN ^1H (**figure 12**) permet d'observer de nouveaux signaux correspondant au groupement furfuryle lié au noyau aromatique de la julolidine en C-9 comme suit :

- ✓ trois singulet large d'intégration 1H chacun résonnent à $\delta_{\text{H}} = 7.30$ ppm, $\delta_{\text{H}} = 6.27$ ppm et à $\delta_{\text{H}} = 5.99$ ppm correspondant respectivement aux protons H_{17} , H_{18} et H_{19} .
- ✓ un signal sous forme d'un singulet d'intégration 2H apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 3.76$ ppm correspondant au proton H_{14} .

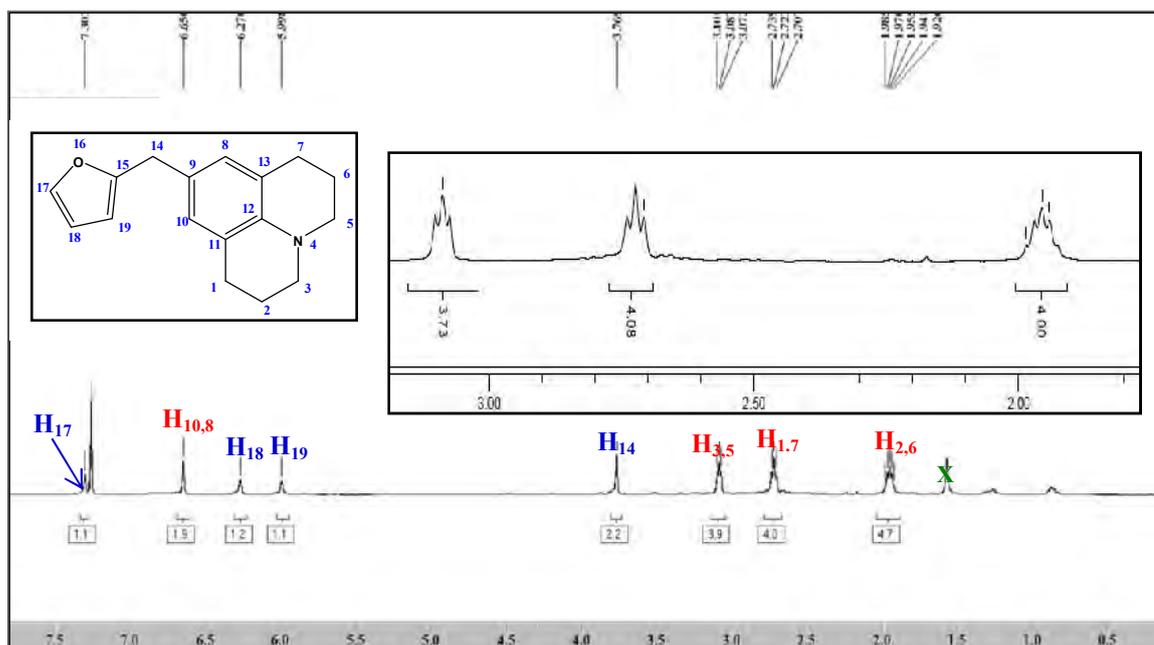


Figure 12: Spectre RMN ^1H du composé **6b** (300 MHz, CDCl_3)

Le spectre de RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **6b** (figure 13) permet d'observer des signaux correspondants à 16 atomes de carbone ($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}$) dont 5 appartient au groupement furfuryle apparaissant comme suit :

- ✓ deux carbones quaternaires, le premier résonne à $\delta_{\text{C}} = 154.6$ ppm correspondant au carbone C_{15} et le deuxième apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 124.2$ ppm correspondant au carbone C_9 .
- ✓ trois pics de $(\text{CH} \uparrow)$ apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 140.6$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 109.0$ ppm et à $\delta_{\text{C}} = 104.5$ ppm correspondant respectivement aux carbones C_{17} , C_{18} et C_{19} .
- ✓ un carbone éthylénique ($\text{CH}_2 \downarrow$) résonne à $\delta_{\text{C}} = 32.5$ ppm correspondant au carbone C_{14} .

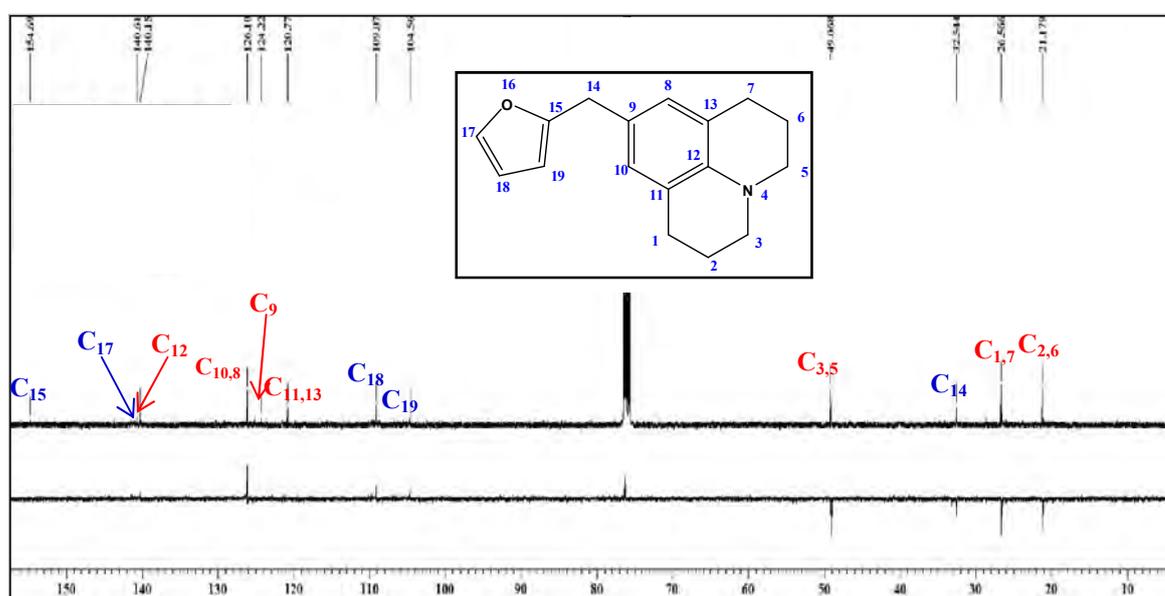


Figure 13: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **6b** (75 MHz, CDCl_3)

CHAPITRE III

Partie expérimentale

III.1. Généralités

Toutes les réactions ont été effectuées sous atmosphère inerte en utilisant des tubes de Schlenk et une rampe à vide reliée à une pompe à vide et une bouteille d'argon. Le toluène et le dichlorométhane utilisés ont été séchés par un système SPS-800 MBRAUN (SPS - Solvent Purification System) et stocker sous argon. Les réactions ont été suivies par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil Shimadzu GC-2013 équipé d'une colonne Supelco Equity™-5 Fused Silica capillary column 30M*0.25 mm épaisseur du film : 0.25 µm. La 1,2,3,4 tétrahydroquinoléine **1a**, le propane-1,3-diol **2a**, le 2-méthylpropane-1,3-diol **2b**, le butane-1,3-diol **2c** et les aldéhydes ont été acquis auprès de sources commerciales et utilisés tel que reçu et ont été conservés sous argon pour les protéger d'oxydation. Les produits obtenus ont été purifiés par chromatographie sur colonne (CC) (gel de silice Merck 230-400 mesh) et ont été suivis par la chromatographie de couche mince (CCM), les CCM (Merck 60F₂₅₄) ont été visualisés par l'exposition à la lumière UV (254 ou 365 nm) ou révélés utilisant le KMnO₄.

Les spectres RMN ont été enregistrés sur 3 spectromètres différents, Bruker AM 300 WB (300 MHz ¹H, 75 MHz ¹³C) et Bruker AVANCE 400 (400,1 MHz ¹H, 100 MHz ¹³C) Bruker AVANCE 500 (500 MHz ¹H, 125 MHz ¹³C). Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au chloroforme résiduel (7.26 ppm ¹H, 77.0 ppm ¹³C).

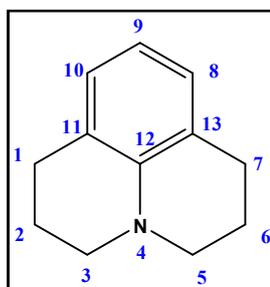
Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz. Les abréviations utilisées pour les assignations en RMN ¹H sont les suivantes: singulet (s), singulet large (sl), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), sextuplet (sex), doublet de doublets (dd), doublet de triplets (dt), et un multiplet (m). Tous les réactifs ont été pesés et manipulés à l'air ambiant puis remis sous atmosphère inerte (argon) à température ambiante ou au réfrigérateur.

III.2. Procédure générale pour la synthèse de la julolidine **3**

Dans un tube de Schlenk de 25 mL, préalablement séché sous vide, est placé sous atmosphère inerte, le propane-1,3-diol **2** (0.67 mmol, 1.0 éq.), la 1,2,3,4 tétrahydroquinoléine **1a** (2.0 éq.), le toluène (0.5 mL), [Ir(C₅Me₅)Cl₂]₂ (1 mol%) et l'acide 2-(diphénylphosphino)benzoïque **DPPBA** (2 mol%) ont été successivement ajoutés, le mélange réactionnel a été évacué par des cycles d'argon à vide 5 fois et placé dans un bain

d'huile à 130°C pendant 20-36 heures. Après le refroidissement de la réaction à température ambiante, le brut réactionnel est alors purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice, en utilisant l'éluant (Et₂O/EP) pour donner après évaporation la julolidine attendu **3**.

III.2.1. La 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(julolidine) **3a**



On mélange la 1,2,3,4 tétrahydroquinoléine **1a** (2 éq.) et le propane-1,3-diol **2a** (0.67 mmol, 1.0 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (98:2) a donné le composé **3a** sous forme des cristaux blancs dont le rendement isolé est 80%.

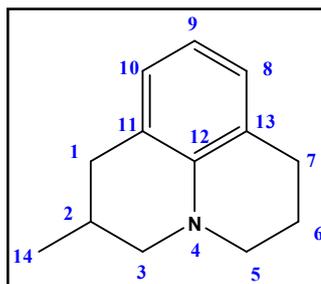
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 6.86 (d, *J*=7.4 Hz, 2H_{8,10}), 6.57 (t, *J*= 7.4 Hz, 1H₉), 3.20 (tl, *J*=5.6 Hz, 4H_{3,5}), 2.83 (tl, *J*= 6.5 Hz, 4H_{1,7}), 2.05 (qtl, *J*= 6.2 Hz, 4H_{2,6}).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.8 C₁₂; 125.8 C_{10,8}; 120.4 C_{11,13}; 114.6 C₉; 48.9 C_{3,5}; 26.6 C_{1,7}; 21.0 C_{2,6}.

GC-MS *m/z* (%): 173 (M⁺, 100%), 172, 156, 144, 130, 115, 103, 91.

m/z théorique pour C₁₂H₁₆N [M+H]⁺ 174.12827, *m/z* expérimentale a été calculé par la spectrométrie de masse à haute résolution (SMHR) trouvé 174.1282. Les données spectrales sont conformément à la littérature [49].

III.2.2. La 2-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(2-méthyljulolidine) **3b**



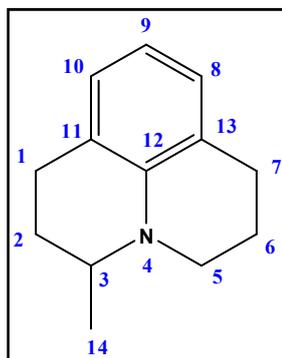
On mélange la 1,2,3,4 tétrahydroquinoléine **1a** (2 éq.) et le 2-méthylpropane-1,3-diol **2b** (0.67 mmol, 1.0 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (99:1) a donné le composé **3b** sous forme des cristaux jaunes dont le rendement isolé est 78%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 6.80 (d, *J*= 7.3 Hz, 2H_{10,8}), 6.51 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H₉), 3.20-3.17 (m, 2H₅), 3.17-3.07 (m, 1H_{3b}), 2.85-2.71 (m, 4H_{1,7}), 2.44 (dd, *J*= 15.8, 10.8 Hz, 1H_{3a}), 2.18-2.05 (m, 1H₂), 2.05-1.92 (m, 2H₆), 1.06 (d, *J*= 6.5 Hz, 3H₁₄).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.4 C₁₂; 125.9 C₈; 125.8 C₁₀; 120.3 C_{11,13}; 114.6 C₉; 56.1 C₃; 48.9 C₅; 35.1 C₁; 26.6 C₇; 26.0 C₂; 21.0 C₆; 18.2 C₁₄.

GC-MS *m/z* (%): 187 (M⁺, 100%), 186, 170, 158, 144, 130, 115, 103, 91.
m/z théorique pour C₁₃H₁₈N [M+H]⁺ 188.14392, expérimentale 188.1440. Les données spectrales sont conformément à la littérature [46].

III.2.3. La 3-méthyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(3-méthyljulolidine) **3c**



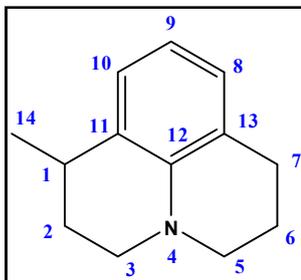
On mélange la 1,2,3,4 tétrahydroquinoléine **1a** (2 éq.) et le butane-1,3-diol **2c** (0.67 mmol, 1.0 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (99:1) a donné le composé **3c** sous forme d'une huile jaune (devient une huile rouge pendant le temps) dont le rendement isolé est 5%.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 6.82-6.79 (2d (t app), *J*= 6.1 Hz, 2H_{10,8}), 6.48 (t, *J*=7.4 Hz, 1H₉), 3.42-3.36 (m, 2H₅), 3.10-3.07 (m, 1H₃), 2.88-2.75 (m, 3H_{7,1a}), 2.68 (m, 1H_{1b}) 1.96-1.95 (m, 3H_{2b,6}), 1.78-1.74 (m, 1H_{2a}), 1.16 (d, *J*= 6.5 Hz, 3H₁₄).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.6 C₁₂; 126.9 C₁₀; 126.8 C₈; 121.2 C₁₁; 120.7 C₁₃; 114.7 C₉; 52.7 C₃; 47.8 C₅; 28.0 C₂; 27.7 C₇; 23.6 C₁; 22.0 C₆; 17.3 C₁₄.

GC-MS m/z (%): 187 (M^+ , 75%), 172 (100%), 158, 144, 130, 115, 103, 91.
 m/z théorique pour $C_{13}H_{18}N$ $[M+H]^+$ 188.14392 expérimentale 188.1439.

III.2.4. La 1-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(1-méthyljulolidine) **3d**



On mélange la 1,2,3,4 tétrahydroquinoléine **1a** (2 éq.) et le butane-1,3- diol **2c** (0.67 mmol, 1.0 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (99:1) a donné le composé **3d** sous forme d'une huile jaune (devient une huile verte pendant le temps) dont le rendement isolé est 23%.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 6.90 (m, 1H₈), 6.79 (m, 1H₁₀), 6.52 (t, *J*= 7.5 Hz, 1H₉), 3.19-3.05 (m, 4H_{3,5}), 2.88 (m, 1H₁), 2.78-2.75 (m, 2H₇), 2.07-1.94 (m, 3H_{2b,6}), 1.70-1.66 (m, 1H_{2a}), 1.27 (d, *J*= 6.9 Hz, 3H₁₄).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.3 C₁₂; 125.9 C₈; 125.8 C₁₀; 125.0 C₁₁; 120.5 C₁₃; 114.6 C₉; 49.1 C₅; 46.0 C₃; 29.7 C₁; 28.6 C₂; 26.7 C₇; 22.1 C₁₄; 21.0 C₆.

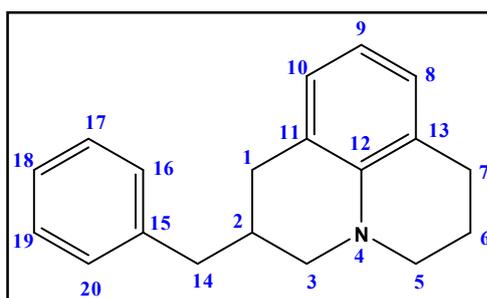
GC-MS m/z (%) 187 (M^+ , 30%), 172 (100%), 156, 144, 130, 115, 103, 90.
 m/z théorique pour $C_{13}H_{18}N$ $[M+H]^+$ 188.1439, expérimentale 188.1445. Les données spectrales sont conformément à la littérature [61].

III.3. Procédure générale pour la synthèse de julolidines **5** et **6**

Dans un tube de Schlenk de 25 mL, préalablement séché sous vide, est placé sous atmosphère inerte, l'aldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), la julolidine **3** (1.0 éq.), le toluène (0.5mL), [Ir(C₅Me₅)Cl₂]₂ (1 mol%) et l'acide 2-(diphénylphosphino)benzoïque **DPPBA** ou l'acide diphénylphosphino-benzènesulfonique **DPPBSA** (2 mol%) ont été successivement ajoutés, le mélange réactionnel a été évacué par des cycles d'argon à vide 5 fois et placé dans un bain d'huile à 130-150°C pendant 16 heures. Après le refroidissement de la

réaction à température ambiante, l'acide formique (1.5 éq.) a été ajouté et le résultat a été placé dans un bain d'huile à 130°C pendant 2 heures supplémentaires. Après le refroidissement à température ambiante, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur une colonne de silice, en utilisant comme éluant (Et₂O/EP) ou (EP/DCM) pour donner après évaporation les julolidines **5** et **6**.

III.3.1. La 2-benzyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/ 2-benzyljulolidine (**5a**)



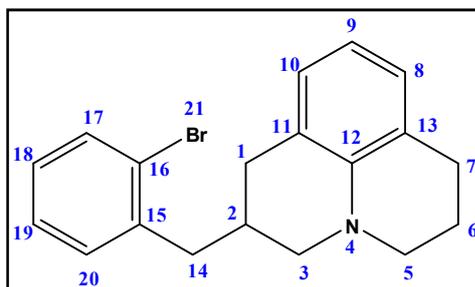
On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le benzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (99:1) a donné le composé **5a** sous forme d'une huile marron dont le rendement isolé est 67%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.35-7.32 (m, 2H_{17,19}), 7.26-7.21 (m, 3H_{16,18,20}), 6.82-6.78 (m, 2H_{10,8}), 6.53 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H₉), 3.18-3.10 (m, 3H_{3b,5}), 2.87-2.77 (m, 4H_{1,7}), 2.69 (d, *J*=7.4 Hz, 1H_{14a}), 2.56 (dd, *J*= 15.9, 9.2 Hz 1H_{3a}), 2.39-2.33 (m, 1H_{14b}), 2.03-1.97 (m, 3H_{6,2}).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.5 C₁₂; 139.2 C₁₅; 128.0 C_{16,20}; 127.3 C_{17,19}; 126.1 C₁₇; 125.9 C₈; 124.9 C₁₀; 119.6 C_{13,11}; 114.8 C₉; 53.5 C₃; 49.0 C₅; 39.1 C₁₄; 33.0 C₁; 32.9 C₂; 26.6 C₇; 21.0 C₆.

GC-MS *m/z* (%): 263 (M⁺, 70%), 207 (10%), 184 (20%), 170 (100%), 157, 144.
m/z théorique pour C₁₉H₂₂N [M+H]⁺ 264.17522, expérimentale 264.1750.

III.3.2. La 2-(2-bromobenzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/2-(*o*-bromobenzyl)-julolidine (5b)



On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et l'*o*-bromobenzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (99,5:0.5) a donné le composé **5b** sous forme d'une huile jaune (devient marron dans le temps) dont le rendement isolé est 65%.

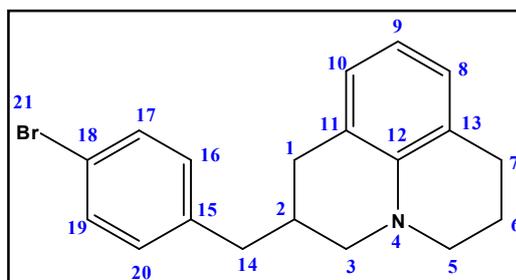
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.56 (dd, *J*= 7.8, 1.1 Hz, 1H₁₇), 7.27-7.18 (m, 2H_{18,20}), 7.09 (dt, *J*= 7.8, 1.9 Hz, 1H₁₉), 6.80-6.77 (m, 2H_{10,8}), 6.50 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H₉), 3.14-3.05 (m, 3H_{3b,5}), 2.89-2.74 (m, 6H_{7,1,14}), 2.57 (dd, *J*= 16.0, 8.9 Hz, 1H_{3a}), 2.50-2.41 (m, 1H₂), 2.01-1.94 (m, 2H₆).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.5 C₁₂; 138.7 C₁₅; 131.9 C₂₀; 130.3 C₁₇; 126.8 C₁₈; 126.2 C₁₉; 126.1 C₈; 125.9 C₁₀; 123.8 C₁₆; 120.4 C₁₁; 119.4 C₁₃; 114.8 C₉; 53.3 C₃; 48.9 C₅; 39.0 C₁₄; 32.8 C₁; 31.2 C₂; 26.6 C₇; 21.0 C₆.

GC-MS *m/z* (%): 341 (M⁺, 25%), 262 (20%), 184, 170.

m/z théorique pour C₁₉H₂₁N⁷⁹Br [M+H]⁺ 342.08574, expérimentale 342.0857.

III.3.3. La 2-(4-bromobenzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine/2-(*p*-bromobenzyl)-julolidine (5c)



On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le *p*-bromobenzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/DCM (70:30) a donné le composé **5c** sous forme d'une huile jaune dont le rendement isolé est 64%.

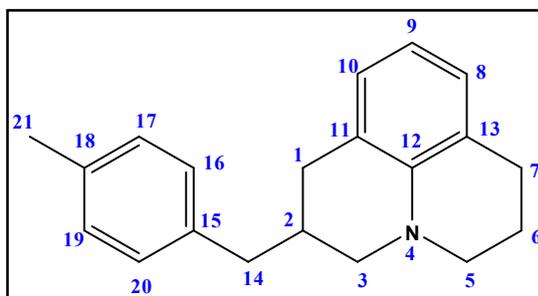
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.43 (d, $J = 8.0$ Hz, $2\text{H}_{17,19}$), 7.07 (d, $J = 8.0$ Hz, $2\text{H}_{16,20}$), 6.80 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H_8), 6.76 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H_{10}), 6.51 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H_9), 3.13-3.05 (m, $3\text{H}_{3b,5}$), 2.82-2.76 (m, $4\text{H}_{7,1}$), 2.62-2.61 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H_{14}), 2.50 (dd, $J = 16.0, 9.0$ Hz, 1H_{3a}), 2.29-2.26 (m, 1H_2), 2.02-1.92 (m, 2H_6).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 141.4, C_{12} ; 138.2 C_{15} ; 130.3 $\text{C}_{16,20}$; 129.7 $\text{C}_{17,19}$; 126.1 C_8 ; 126.0 C_{10} ; 120.4 C_{11} ; 119.3 C_{13} ; 118.7 C_{18} ; 114.9 C_9 ; 53.2 C_3 ; 48.9 C_5 ; 38.3 C_{14} ; 32.8 C_2 ; 32.8 C_1 ; 26.6 C_7 ; 21.0 C_6 .

GC-MS m/z (%): 343 (25%), 341 (25%), 184, 170, 144, 130.

m/z théorique pour $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}^{79}\text{Br}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 342.08574, expérimentale 342.0852.

III.3.4. La 2-(4-méthylbénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine /2-(4'-méthylbénzyl)-julolidine (**5d**)



On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le *p*-méthylbenzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/DCM (65:35) a donné le composé **5d** sous forme d'une huile marron dont le rendement isolé est 43%.

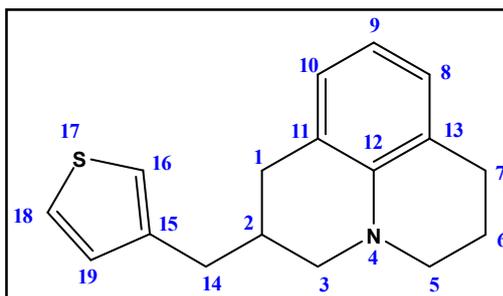
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.12 (d, $J = 7.6$ Hz, $2\text{H}_{17,19}$), 7.08 (d, $J = 7.6$ Hz, $2\text{H}_{16,20}$), 6.79-6.75 (2d, t app, $J = 7.6$ Hz, $2\text{H}_{10,8}$), 6.49 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H_9), 3.14-3.06 (m, $3\text{H}_{3b,5}$), 2.84-2.74 (m, $4\text{H}_{7,1}$), 2.62-2.61 (m, 2H_{14}), 2.52 (dd, $J = 16.0, 9.4$ Hz, 1H_{3a}), 2.34 (s, 3H_{21}), 2.34-2.27 (m, 1H_2), 1.98-1.94 (m, 2H_6).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 141.5 C₁₂; 136.1 C₁₅; 134.4 C₁₈; 127.9 C_{16,20}; 127.9 C_{17,19}; 126.1 C₈; 125.8 C₁₀; 120.3 C₁₁; 119.7 C₁₃; 114.7 C₉; 53.5 C₃; 48.9 C₅; 38.7 C₁₄; 33.0 C₂; 33.0 C₁; 26.6 C₇; 21.0 C₆; 20.0 C₂₁.

GC-MS m/z (%): 277 (M^+ , 60%), 184, 170 (100%), 157, 144, 130.

m/z théorique pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 278.19087, expérimentale 278.1909.

III.3.5. La 2-(thiophèn-3-ylméthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (5e)



On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le thiophène carboxaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/Et₂O (99:1) a donné le composé **5e** sous forme d'une poudre blanche (devient une huile marron dans le temps) dont le rendement isolé est 72%.

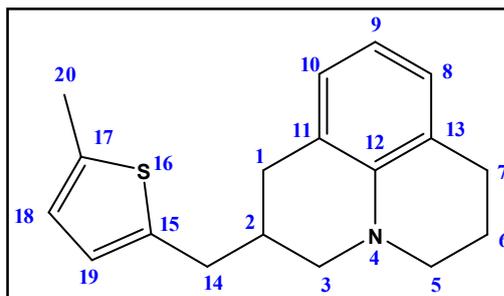
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.27 (dd, $J= 5.0, 3.0$ Hz, 1H₁₈), 6.96-6.94 (m, 2H_{16,19}), 6.79-6.77 (2d, t app, $J= 7.5$ Hz, 2H_{10,8}), 6.49 (t, $J= 7.5$ Hz, 1H₉), 3.14-3.04 (m, 3H_{3b,5}), 2.84-2.73 (m, 4H_{7,1}), 2.69 (d, $J= 7.5$ Hz, 2H₁₄), 2.50 (dd, $J= 16.0, 9.2$ Hz, 1H_{3a}), 2.35-2.25 (m, 1H₂), 2.04-1.90 (m, 2H₆).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 141.5 C₁₂; 139.5 C₁₅; 127.5 C₁₉; 126.1 C₈; 125.9 C₁₀; 124.3 C₁₈; 120.4 C₁₆; 120.0 C₁₁; 119.6 C₁₃; 114.8 C₉; 53.6 C₃; 49.0 C₅; 33.4 C₁₄; 32.9 C₁; 32.4 C₂; 26.6 C₇; 21.0 C₆.

GC-MS m/z (%): 269 (M^+ , 25%), 170, 154, 142, 130.

m/z théorique pour $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NS}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 270.13165, expérimentale 270.1323.

III.3.6. La 2-((5-méthylthiophèn-2-yl)méthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij] quinoléine (5f)



On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le 5-méthyl-2-thiophène carboxaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant DCM/EP (75:25) a donné le composé **5f** sous forme d'une huile marron dont le rendement isolé est 43%.

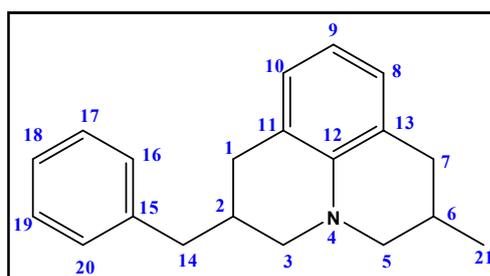
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.80-6.78 (2d, t app, $J= 5.5$ Hz, $2\text{H}_{10,8}$), 6.58 (sl, $2\text{H}_{18,19}$), 6.51 (t, $J= 7.3$ Hz, 1H_9), 3.16-3.09 (m, $3\text{H}_{3b,5}$), 2.90-2.74 (m, $6\text{H}_{1,7,14}$), 2.52 (dd, $J= 16.0, 9.0$ Hz, 1H_{3a}), 2.46 (s, 3H_{20}), 2.35-2.24 (m, 1H_2), 2.01-1.93 (m, 2H_6).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 141.5 C_{12} ; 139.5 C_{15} ; 136.7 C_{17} ; 126.2 C_8 ; 125.9 C_{10} ; 123.9 C_{19} ; 123.6 C_{18} ; 120.3 C_{11} ; 119.4 C_{13} ; 114.8 C_9 ; 53.2 C_3 ; 49.0 C_5 ; 33.3 C_2 ; 33.1 C_1 ; 32.7 C_{14} ; 26.6 C_7 ; 21.0 C_6 , 14.2 C_{20} .

GC-MS m/z (%): 283 (M^+ , 50%), 250, 210, 184, 170.

m/z théorique pour $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 284.14730, expérimentale 284.1469.

III.3.7. La 2-benzyl-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (**5g**)



On mélange la 2-méthyljulolidine **3b** (1 éq.) et le benzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/DCM (80:20) a donné le composé **5g** dont le rendement isolé est 38% (mélange de deux diastérisomères).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.31-7.28 (m, $2\text{H}_{16,20}$), 7.23-7.17 (m,

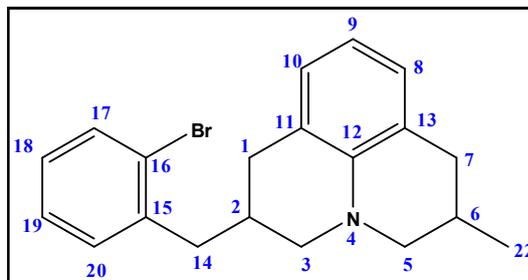
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.79-6.75 (2d, t app, $J=7.5$ Hz, $2\text{H}_{10,8}$), 6.47 (t, $J=7.5$ Hz, 1H_9), 3.08 (dd, $J=11.3, 3.0$ Hz, 1H_{3b}), 3.02-2.99 (m, 1H_{5b}), 2.87-2.66 (m, $6\text{H}_{1,7,14}$), 2.50 (dd, $J=15.5, 6.9$ Hz, 1H_{3a}), 2.40 (dd, $J=15.5, 10.0$ Hz, 1H_{5a}), 2.27-2.22 (m, 1H_2), 2.17-2.09 (m, 1H_6), 1.03 (d, $J=6.6$ Hz, 3H_{21}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 141.8 C_{12} ; 140.6 C_{15} ; 129.0 $\text{C}_{16,20}$; 128.2 $\text{C}_{17,19}$; 127.1 C_{18} ; 126.9 C_8 ; 125.9 C_{10} ; 120.8 C_{11} ; 120.0 C_{13} ; 115.4 C_9 ; 56.8 C_5 ; 53.8 C_3 ; 39.6 C_1 ; 36.0 C_{14} ; 33.7 C_2 ; 33.6 C_7 ; 26.9 C_6 ; 19.1 C_{21} .

GC-MS m/z (%): 277 (M^+ , 75%), 184, 142, 115, 91.

m/z théorique pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 278.19087, expérimentale 278.1914.

III.3.8. La 2-(2-bromobenzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine (5h)



On mélange la 2-méthyljulolidine **3b** (1 éq.) et le *o*-benzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/DCM (80:20) a donné le composé **5h** dont le rendement isolé est 68% (mélange de deux diastérisomères).

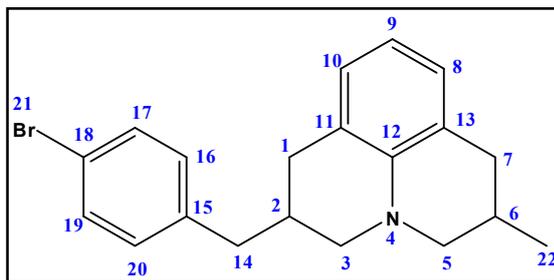
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.56 (d, $J=7.9$ Hz, 1H_{17}), 7.21 (t, $J=8.0$ Hz, $2\text{H}_{18,20}$), 7.09 (t, $J=7.9$, 1H_{19}), 6.79-6.77 (m, $2\text{H}_{10,8}$), 6.51 (t, $J=7.3$ Hz, 1H_9), 3.07-3.01 (m, $2\text{H}_{3a,5a}$), 2.90-2.70 (m, $6\text{H}_{1,7,14}$), 2.58 (dd, $J=16.0, 10.0$ Hz, 1H_6), 2.51-2.39 (m, $2\text{H}_{3b,5b}$), 2.16-2.05 (m, 1H_2), 1.01 (d, $J=6.5$ Hz, 3H_{22}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 141.1 C_{12} ; 138.5 C_{15} ; 131.9 C_{20} ; 130.3 C_{17} ; 126.8 C_{18} ; 126.1 C_{19} ; 126.0 C_8 ; 126.0 C_{10} ; 123.8 C_{16} ; 120.3 C_{11} ; 119.5 C_{13} ; 115.1 C_9 ; 56.1 C_5 ; 53.6 C_3 ; 39.3 C_1 ; 35.1 C_{14} ; 33.1 C_7 ; 31.5 C_2 ; 26.0 C_6 ; 18.2 C_{22} .

GC-MS m/z (%): 355 (M^+ , 45%), 276, 198, 184, 171.

m/z théorique pour $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}^{79}\text{Br}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 356.10139 expérimentale 356.1005.

III.3.9. La 2-(4-bromobenzyl) -6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine (5i)



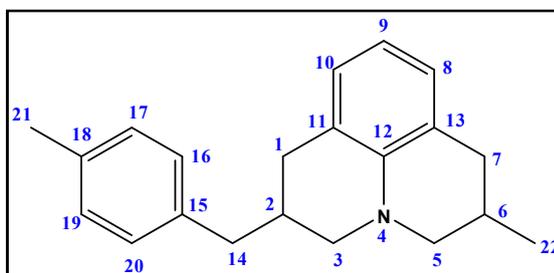
On mélange la 2-méthyljulolidine **3b** (1 éq.) et le *p*-bromobenzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP/DCM (80:20) a donné le composé **5i** sous forme d'une huile jaune devient verte dont le rendement isolé est 36% (mélange de deux diastereoisomères).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.41 (d, $J = 8.0$ Hz, $2\text{H}_{17,19}$), 7.06 (d, $J = 8.0$ Hz, $2\text{H}_{16,20}$), 6.82 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H_8), 6.78 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H_{10}), 6.57-6.56 (m, 1H_9), 3.10-3.02 (m, $2\text{H}_{3b,5b}$), 2.87-2.77 (m, $4\text{H}_{1,7}$), 2.71-2.62 (m, 2H_{14}), 2.51 (dd, $J = 15.5, 6.5$ Hz, 1H_6), 2.44 (dd, $J = 15.9, 10.0$, Hz, 1H_2), 2.28-2.14 (m, $2\text{H}_{3a,5a}$), 1.05 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H_{22}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 139.4 C_{12} ; 139.2 C_{15} ; 131.4 $\text{C}_{16,20}$; 130.8 $\text{C}_{17,19}$; 127.2 C_8 ; 127.1 C_{10} ; 119.9 C_{11} ; 119.8 C_{13} ; 119.7 C_{18} ; 116.6 C_9 ; 57.0 C_5 ; 53.9 C_3 ; 38.9 C_1 ; 35.9 C_{14} ; 33.6 C_2 ; 33.3 C_7 ; 26.9 C_6 ; 19.1 C_{22} .

GC-MS m/z (%): 355 (M^+ , 40%), 340, 281, 184.

III.3.10. La 2-(4-méthylbenzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij] quinoléine (5j)



On mélange la 2-méthyljulolidine **3b** (1 éq.) et le *p*-méthylbenzaldéhyde (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en

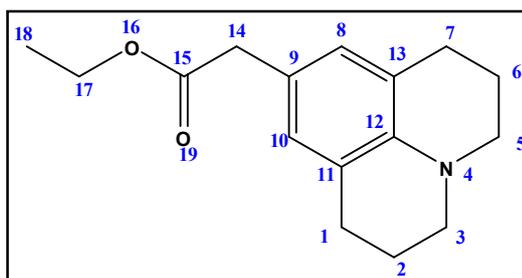
utilisant comme éluant EP / DCM (80:20) a donné le composé **5j** dont le rendement isolé est 34% (mélange de deux diastereoisomères).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7.11 (d, $J=7.7$ Hz, $2\text{H}_{17,19}$), 7.07 (d, $J=7.7$ Hz, $2\text{H}_{16,20}$), 6.77 (2d, t app, $J=7.5$ Hz, $2\text{H}_{10,8}$), 6.47 (t, $J=7.5$ Hz, 1H_9), 3.08 (dd, $J=11.1, 2.5$ Hz, 1H_{3b}), 3.01 (dd, $J=11.0, 2.0$ Hz, 1H_{5b}), 2.87-2.74 (m, $4\text{H}_{1,7}$), 2.65-2.62 (m, 2H_{14}), 2.49 (dd, $J=7.4, 15.8$ Hz, 1H_{3a}), 2.40 (dd, $J=15.0, 10.0$ Hz, 1H_{5a}), 2.33 (s, 3H_{21}), 2.25-2.09 (m, $2\text{H}_{2,6}$), 1.03 (d, $J=6.5$ Hz, 3H_{22}).

RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 140.8 C_{12} ; 136.4 C_{15} ; 134.3 C_{18} ; 127.9 $\text{C}_{16,17,19,20}$; 126.1 C_8 ; 125.9 C_{10} ; 119.8 C_{11} ; 119.1 C_{13} ; 114.3 C_9 ; 55.8 C_5 ; 52.8 C_3 ; 38.2 C_1 ; 35.0 C_{14} ; 32.8 C_2 ; 32.6 C_7 ; 25.9 C_6 ; 20.0 C_{22} ; 18.1 C_{21} .

GC-MS m/z (%): 291 (M^+ , 75%), 274, 245, 198, 184, 171.

III.3.11. L'éthyl 2-(2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléin-9-yl) acétate **6a**

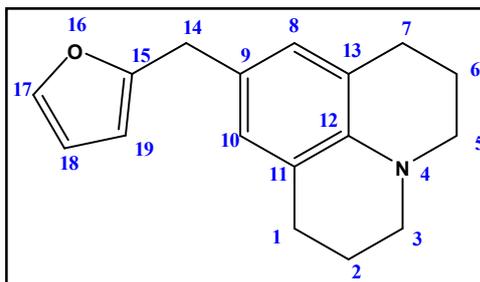


On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le glyoxylate d'éthyle (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP / Et_2O (75:25) a donné le composé **6a** sous forme d'une huile rouge dont le rendement isolé est 65%.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 6.69 (s, $2\text{H}_{10,8}$), 4.12 (q, $J=7.0$ Hz, 2H_{17}), 3.40 (s, 2H_{14}), 3.11-3.08 (m, $4\text{H}_{3,5}$), 2.74-2.71 (m, $4\text{H}_{1,7}$), 1.98-1.92 (m, $4\text{H}_{2,6}$), 1.25 (t, $J=7.0$ Hz, 3H_{18}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 171.5 C_{15} ; 141.0 C_{12} ; 126.6 $\text{C}_{10,8}$; 120.7 $\text{C}_{13,11}$; 120.0 C_9 ; 59.5 C_{17} ; 49.0 $\text{C}_{3,5}$; 39.4 C_{14} ; 26.5 $\text{C}_{1,7}$; 21.1 $\text{C}_{6,2}$; 13.2 C_{18} .

m/z théorique pour $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] 282.14700, expérimentale 282.1468.

III.3.12. La 9-(furan-2-ylméthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2-ij]quinoléine (6b)

On mélange la julolidine **3a** (1 éq.) et le furfural (0.5 mmol, 1.2 éq.), dans le toluène (0.5 mL). Une chromatographie rapide sur gel de silice normale en utilisant comme éluant EP / DCM (80:20) pour minimiser la dégradation, a donné le composé **6b** sous forme d'une huile marron dont le rendement isolé est 20%.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.30 (sl, 1H_{17}), 6.65 (sl, $2\text{H}_{10,8}$), 6.27 (sl, 1H_{18}), 5.99 (sl, 1H_{19}), 3.76 (s, 2H_{14}), 3.08 (t, $J= 5.5$ Hz, $4\text{H}_{3,5}$), 2.72 (t, $J= 6.4$ Hz, $4\text{H}_{1,7}$), 1.95 (q, $J= 6.2$ Hz, $4\text{H}_{2,6}$).

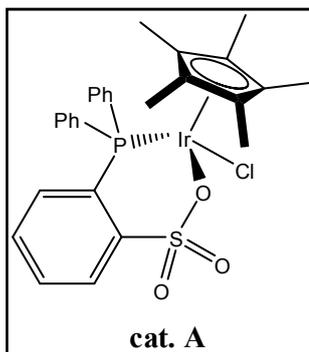
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 154.6 C_{15} ; 140.6 C_{17} ; 140.1 C_{12} ; 126.1 $\text{C}_{10,8}$; 124.2 C_9 ; 120.7 $\text{C}_{11,13}$; 109.0 C_{18} ; 104.5 C_{19} ; 49.0 $\text{C}_{3,5}$; 32.5 C_{14} ; 26.5 $\text{C}_{1,7}$; 21.1 $\text{C}_{2,6}$.

GC-MS m/z (%): 417, 253 (M^+ , 45%), 210, 184, 170, 142, 117.
 m/z théorique pour $[\text{M}+\text{H}]^+$ 254.15449, expérimentale 254.1543.

III.4. Préparation de complexes de ruthénium et d'iridium A-E**III.4.1. Catalyseur A**

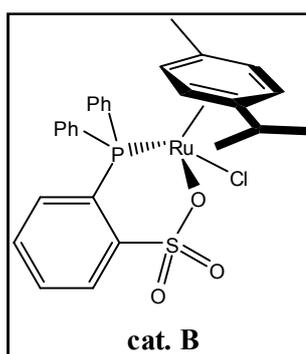
L'acide diphenyl phosphane benzène sulfonique (DPPBSA) (500 mg, 1.46 mmol) et *t*-BuOK (1.2 éq., 197 mg, 1.75 mmol) ont été ajoutés à un tube de Schlenk de 100 mL. Le tube a été mis sous vide et rempli avec de l'argon trois fois. Une quantité minimale du MeOH (dégazé par une purge d'argon pendant 30 min) a été ajoutée et on a agité la solution pendant 30 minutes. A cette solution, on ajoute $[\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)_2\text{Cl}_2]_2$ (0.5 éq., 582 mg, 0.73 mmol). Après avoir agité la solution pendant 16 h, le solvant a été évaporé et le mélange brut a été dissous dans 50 mL de dichlorométhane sec. La solution a021 été

canulée pour éliminer les sels inorganiques, suivie par une concentration sous vide a donné cat. **A** sous forme d'un solide de couleur jaune pâle (rendement de 84%) [20].



III.4.2. Catalyseur B

L'acide tert-Butyl Phenyl Phosphino-Benzène Sulfonique (0.792 mmol) et le *t*-BuOK (0.871 mmol) ont été ajoutés à un tube de Schlenk de 25 mL. Le tube de Schlenk a été mis sous vide et rempli avec de l'argon trois fois. Une quantité minimale du MeOH (dégazé par une purge à l'azote pendant 30 minutes) a été ajoutée et la solution a été agitée pendant 30 min. A cette solution, on ajoute [Ru(*p*-cymène)Cl₂]₂ (200 mg, 0.396 mmol). La solution de couleur rouge devient une suspension après 30 min. Après agitation pendant 14 h, le MeOH a été évaporé, puis le brut a été dissous dans 30 mL de CH₂Cl₂. La solution a été canulée pour éliminer les sels inorganiques. Ensuite, le solvant a été réduit à un minimum, et recouvrant avec de l'hexane a conduit à des cristaux rouges du cat. **B** (rendement 90%). [52]

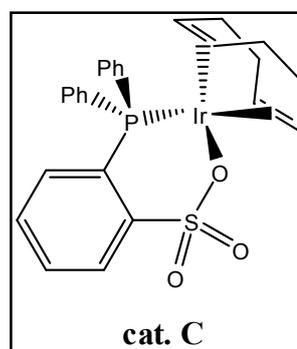


III.4.3. Catalyseur C

L'acide diphenylphosphino-benzènesulfonique (DPPBSA) (100 mg, 1 éq.) et le *t*-BuOK (1.1 éq.) ont été ajoutés à un tube de Schlenk de 25 mL. Le tube a été mis sous vide

et rempli avec de l'argon trois fois. Une quantité minimale du MeOH (dégazé par une purge d'argon pendant 30 min) a été ajoutée et on a agité la solution pendant 30 minutes. Le dimère d'iridium $[\text{Ir}(\text{COD})\text{Cl}]_2$ (0.5 éq.) a été ajouté à la solution blanche trouble résultante. Après avoir agité la solution pendant 16 h, le solvant a été évaporé et le brut a été dissous dans 50 mL de dichlorométhane sec. La solution a été canulée pour éliminer les sels inorganiques, suivie par une concentration sous vide a donné cat. C sous forme d'un solide jaune stable avec un rendement de 83%

La structure du crystal a été déposé au centre de données cristallographique de Cambridge et attribué le numéro de dépôt - CCDC 1044096



RMN ^1H (300 MHz, CD_2Cl_2): δ_{H} (ppm) 8.12 (dd, $J = 6.6, 4.4$ Hz, 1H), 7.64-7.55 (m, 5H), 7.50-7.45 (m, 7H), 7.35-7.29 (m, 1H), 5.16 (sl, 2H), 2.69 (s, 2H), 2.33-2.21 (m, 4H), 1.91-1.84 (m, 2H), 1.73-1.67 (m, 2H).

RMN ^{31}P (122 MHz, CD_2Cl_2): δ_{P} (ppm) 4.13.

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_2Cl_2): δ_{C} (ppm) 147.3 (d, $J_{\text{P-C}} = 12.8$ Hz, C_{quat}), 135.6 (d, $J_{\text{P-C}} = 9.9$ Hz), 135.4 (d, $J_{\text{P-C}} = 11.0$ Hz), 133.8 (d, $J_{\text{P-C}} = 2.2$ Hz), 132.1 (d, $J_{\text{P-C}} = 52.6$ Hz, C_{quat}), 131.7 (d, $J_{\text{P-C}} = 2.6$ Hz), 131.5 (d, $J_{\text{P-C}} = 2.6$ Hz), 131.2 (d, $J_{\text{P-C}} = 2.2$ Hz), 130.1 (d, $J_{\text{P-C}} = 7.2$ Hz), 129.6 (d, $J_{\text{P-C}} = 58.8$ Hz, C_{quat}), 128.7 (d, $J_{\text{P-C}} = 8.0$ Hz), 128.4 (d, $J_{\text{P-C}} = 10.7$ Hz), 128.3 (d, $J_{\text{P-C}} = 57.7$ Hz, C_{quat}), 128.2 (d, $J_{\text{P-C}} = 11.1$ Hz), 92.6 (d, $J_{\text{P-C}} = 2.7$ Hz), 54.5, 53.6, 33.4 (d, $J = 3.1$ Hz), 28.9 (d, $J = 3.0$ Hz);

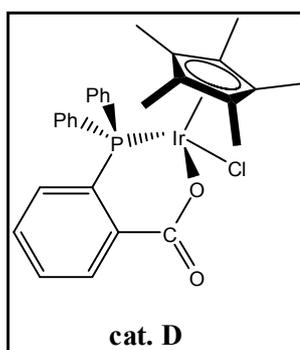
m/z théorique pour $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{NaPS}^{193}\text{Ir}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 665.08674, expérimentale 665.0862.

III.4.4. Catalyseur D

L'acide 2-(diphénylphosphino) benzoïque (DPPBA) (100 mg, 1 éq.) et le dimère

d'iridium $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ (130 mg, 0.5 éq.) ont été ajoutés successivement à un tube de Schlenk de 25 mL. Le tube a été mis sous vide et rempli avec de l'argon trois fois. 3 mL du MeOH (dégazé par une purge d'argon pendant 30 min) ont été ajoutés et la solution a été agitée pendant une nuit. La solution a été canulée pour éliminer les complexes non souhaités, suivie par concentration sous vide a donné le produit brut du complexe D. Une dissolution dans le dichlorométhane suivie par une cristallisation en utilisant la technique de diffusion du solvant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{hexane}$) a donné le catalyseur intermédiaire D: $2\text{H}_3\text{O}^+$; Cl^- ; H_2O . Une dissolution de ces cristaux suivie par un lavage aqueux attentive sous atmosphère inerte a donné le cat. D du couleur orange relativement instable, avec un rendement de 21%.

La structure du crystal a été déposé au centre de données cristallographique de Cambridge et attribué le numéro de dépôt - CCDC 1044095



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} (ppm) 8.32-8.29 (m, 1H₁), 7.95-7.90 (m, 2H), 7.65-7.46 (m, 10H), 7.26-7.20 (m, 1H₄), 1.53 (d, $J=2.3$ Hz, 15H)

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3): δ_{P} (ppm) 4.7

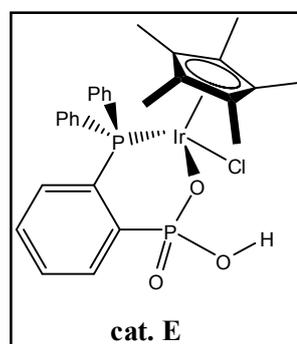
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} (ppm) 172.1, 133.7 (d, $J=10.7$ Hz), 132.6 (d, $J=7.7$ Hz), 132.3 (d, $J=7.9$ Hz), 131.61 (d, $J=10.9$ Hz), 131.4 (d, $J=2.5$ Hz), 131.05 (d, $J=2.0$ Hz), 130.9 (d, $J=1.4$ Hz), 130.4 (d, $J=2.7$ Hz), 128.5 (d, $J=10.7$ Hz), 127.9 (d, $J=11.2$ Hz), 126.45 (d, $J=57\text{Hz}$), 124.0 (d, $J=58$ Hz), 92.3 (d, $J=2.8$ Hz), 7.84.

III.4.5. Catalyseur E

Le *t*-BuOK (1.1 éq.) et le chlorure du sodium (3 éq.) ont été successivement ajoutés à un tube de Schlenk de 25 mL. Le tube a été mis sous vide et rempli avec de l'argon trois fois. Une quantité minimale du MeOH (dégazé par une purge d'argon pendant 30 min) a

été ajouté et on a agité la solution à 0°C suivi par l'addition de DPPBPA (200 mg, 1 éq. contenant 5% de HBr). Après agitation 30 minutes à température ambiante, l'iridium dimère $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$ (232 mg, 0.5 éq.) a été ajouté à la solution blanche trouble résultante. Après avoir agité la solution pendant 16 h, le complexe jaune a été précipité et isolé par cathétérisme. En outre une dissolution dans du dichlorométhane a été réalisée et un lavage aqueux a été effectué pour éliminer les sels minéraux restants, suivie d'une concentration a donné cat. E sous forme d'un solide jaune relativement stable, en un rendement de 70%.

La structure du crystal a été déposé au Centre de données cristallographique de Cambridge et attribué le numéro de dépôt – CCDC 1049270.



^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} (ppm) 8.07-8.01 (m, 1H), 7.92-7.87 (m, 2H), 7.76-7.71 (m, 3H), 7.58-7.50 (m, 3H), 7.43-7.36 (m, 4H), 7.08-7.02 (m, 1H), 1.37 (d, 15H, $J = 2.3$ Hz)

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3): δ_{P} (ppm) 16.3 (PO_3H), 4.3 (PPh_2)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} (ppm) 133.5 (d, $J = 10.3$ Hz), 133.2 (d, $J = 8.7$ Hz), 133.1 (d, $J = 6.0$ Hz), 132.5 (d, $J = 10.4$ Hz), 131.0 (d, $J = 4.1$ Hz), 130.9 (d, $J = 4.1$ Hz), 130.6 (d, $J = 2.6$ Hz), 130.0 (d, $J = 2.7$ Hz), 129.4 (d, $J = 2.4$ Hz), 129.3 (d, $J = 2.2$ Hz), 128.6 (d, $J = 3.2$ Hz), 128.5 (d, $J = 3.3$ Hz), 127.8 (d, $J = 32.9$ Hz), 127.6 (d, $J = 11.2$ Hz), 127.4 (d, $J = 10.4$ Hz), 127.1, 90.2 (d, $J = 2.9$ Hz).

m/z théorique pour $(\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{O}_3^{35}\text{ClP}_2^{193}\text{Ir})$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ est 705.10609, expérimentale 705.1057 (1 ppm); m/z théorique pour $(\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_3^{35}\text{P}_2^{193}\text{Ir})$ $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ est 669.12941 expérimentale 669.1298 (1 ppm).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans ce travail, nous avons effectué, pour la première fois, la synthèse de dérivés julolidines, par le processus du transfert d'hydrogène avec la génération de l'eau comme le seul sous produit, ce qui est en accord avec la chimie verte.

Des nouveaux complexes d'iridium ont été synthétisés. Ces complexes ont été caractérisés par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire, et par diffraction des rayons-X. Cependant, l'optimisation des conditions réactionnelles pour favoriser la formation de la julolidine par NC-(sp²)-cyclisation de la tétrahydroquinoléine et le propane-1,3-diol et minimiser la formation du produit indésirable, la N-propyltétrahydroquinoléine, a été réalisée en utilisant le toluène comme solvant, à 130°C en présence du complexe, généré *in situ*, obtenu par le traitement en [Ir(Cp*)Cl₂]₂ avec DPPBA. Ces conditions conduisent à une conversion totale avec de bon rendement isolé de 80 %. Nous avons ensuite étudié l'application de cette méthode avec différents dérivés du propane-1,3- diols.

Les julolidines synthétisées ont été facilement fonctionnalisées à travers l'autotransfert d'hydrogène en position C₂ et C₉ et 12 nouveaux dérivés julolidines ont été obtenues avec de bons rendements.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

1. Anastas, P.T. and Warner, J.C. (1998). Green Chemistry: Theory and Practice, Oxford University Press: New York, 30.
2. Brieger, G. and Nestrick, T. J. (1974). Catalytic transfer hydrogenation. Chemical Reviews, 74, 567-580.
3. Zassinovich, G. and Mestroni, G. (1992). Asymmetric hydrogen transfer reactions. Chemical Reviews, 92, 1051-1069
4. Tietze, L. F. and Beifuss, U. (1993). Sequential transformations in organic chemistry: A synthetic strategy with a future. Angewandte Chemie (International Edition in English), 32, 131-163
5. Pellissier, H. (2006). Asymmetric domino reactions. Part A: Reactions based on the use of chiral auxiliaries. Tetrahedron, 62, 1619-1665.
6. Sheldon, R. A. (1992). Organic synthesis. Past, present and future. Chemistry and Industry (London), 23, 903-906.
7. Guillena, G., Ramon, D. J. and Yus, M. (2010). Hydrogen autotransfer in the N-alkylation of amines and related compounds using alcohols and amines as electrophiles. Chemical Reviews, 110, 1611-1641.
8. a)- Grigg, R., Mitchell, T. R. B., Sutthivaiyakit, S. and Tongpenyai, N. (1981). Transition metal-catalysed N-alkylation of amines by alcohols. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 611-612. b)- Grigg, R., Mitchell, T. R. B., Sutthivaiyakit, S. and Tongpenyai, N. (1981). Oxidation of alcohols by transition metal complexes part V. Selective catalytic monoalkylation of arylacetonitriles by alcohols. Tetrahedron Letters, 22, 4107-4110
9. Watanabe, Y., Tsuji, Y. and Oshugi, Y. (1981). The ruthenium catalyzed N-alkylation and N-heterocyclization of aniline using alcohols and aldehydes. Tetrahedron Letters, 22, 2667-2670.
10. Watanabe, Y., Tsuji, Y., Ige, H., Ohsugi, Y. and Ohta, T. (1984). Ruthenium-catalyzed N-alkylation and N-benylation of aminoarenes with alcohols. The Journal of Organic Chemistry, 49, 3359-3363.
11. Fujita, K. and Yamaguchi, R. (2005). Cp*Ir complex-catalyzed hydrogen transfer reactions directed toward environmentally benign organic synthesis. Synlett, 560-571.
12. Hamid, M. H. S. A., Slatford, P. A. and Williams, J. M. J. (2007). Borrowing hydrogen in the activation of alcohols. Advanced Synthesis and Catalysis, 349, 1555-1575
13. Hamid, M. H. S. A. and Williams, J. M. J. (2007). Ruthenium-catalysed synthesis of tertiary amines from alcohols. Tetrahedron Letters, 48, 8263-8265.

14. Yamaguchi, R., Kawagoe, S., Asai, C. and Fujita, K. I. (2008). Selective synthesis of secondary and tertiary amines by Cp*iridium-catalyzed multialkylation of ammonium salts with alcohols. *Organic Letters*, 10, 181-184.
15. Tillack, A., Hollmann, D., Michalik, D. and Beller, M. (2008). Salt-free synthesis of tertiary amines by ruthenium-catalyzed amination of alcohols. *European Journal of Organic Chemistry*, 4745-4750.
16. Aramoto, H., Obora, Y. and Ishii Y. (2009). N-heterocyclization of naphthylamines with 1,2- and 1,3-diols catalyzed by an iridium chloride/BINAP system. *The Journal of Organic Chemistry*, 74, 628-633.
17. Bahn, S., Imm, S., Neubert, L., Zhang, M., Neumann, H. and Beller, M. (2011). The catalytic amination of alcohols. *ChemCatChem*, 3, 1853-1864.
18. Jianguang, Z. and Jie, F. (2011). One-pot synthesis of quinazolinones via iridium catalyzed hydrogen transfers. *Journal of Organic Chemistry*, 76, 7730-7736.
19. Obora, Y., Ogawa, S. and Yamamoto, N. (2012). Iridium-catalyzed alkylation of methylquinolines with alcohols. *The Journal of Organic Chemistry*, 77, 9429-9433.
20. Agrawal, S., Lenormand, M. and Martin-Matute, B. (2012). Selective alkylation of (Hetero) aromatic amines with alcohols catalyzed by a ruthenium pincer complex. *Organic Letters*, 14, 1456-1459.
21. Yuan, K., Jiang, F., Sahli, Z., Achard, M., Roisnel, T. and Bruneau, C. (2012). Iridium-catalyzed oxidant-free dehydrogenative C-H bondfunctionalization: selective preparation of n-arylpiperidines through tandem hydrogen transfers. *Angewandte Chemie International Edition*. 51, 8876-8880.
22. Fogg, D. E., dos Santos, E. N. (2004). Tandem catalysis : a taxonomy and illustrative review. *Coordination Chemistry Reviews*. 248, 2365-2379.
23. Sahli, Z., Sundararaju, B., Achard, M. and Bruneau, C. (2013). Selective carbon-carbon bond formation: terpenylations of amines involving hydrogen transfers. *Green Chemistry*, 15, 775-779.
24. Crotti, C., Farnetti, E., Licen, S., Barbieri, P. and Pitacco, G. (2014). Iridium-catalyzed N-alkylation of diamines with glycerol. *Journal of Molecular Catalysis A*, 382, 64-70.
25. Pinkus, G. (1892). Action of trimethylene chlorobromide on aromatic amines and amides. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 25, 2798-2806.
26. Choi, H., Lee, J. K., Song, K. H., Song, K., Kang, S. O. and Ko, J. (2007). Synthesis of new julolidine dyes having bithiophene derivatives for solar cell. *Tetrahedron*, 63, 1553-1559.

27. Van Gompel, J. and Schuster, G. B. (1987). Chemiluminescence of organic peroxides: Intramolecular electron-exchange luminescence from a secondary perester. *The Journal of Organic Chemistry*, 52, 1465-1468.
28. Braun, H. P., Deneke, U., Guethlein, W. and Nagel, R. (1990). Ger. Offen. DE 3,917,677, Chemical Abstracts. (1991) 115, 25542j.
29. Walter, H. (1991). Ger. Offen. DE 4,025,443, Chemical Abstracts (1991), 114, 247575r.
30. Vejdelek, Z. and Protiva, M. (1990). Potential antidepressant and tranquilizers: synthesis of some 9-(aminoalkoxy)-2,3,6,7-tetrahydro-1h,5h-benzo(ij) quinolizines and 1-(substituted amino)-3-(1-naphthoxy)-2-propanols. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 55, 1290-1296.
31. Moran, A. M., Delbecque, C. and Kelley, A. M. (2001). Solvent effects on ground and excited electronic state structures of the push-pull chromophore julolidinyl-N,N'-diethylthiobarbituric acid. *The Journal of Physical Chemistry A*, 105, 10208-10219.
32. Barbero, N., Barolo, C., Marabello, D., Buscaino, R., Gervasio, G. and Viscardia, G. (2012). Synthesis, optical characterization and crystal and molecular X-ray structure of a phenylazojulolidine derivative. *Dyes and Pigments*, 92, 1177-1183.
33. Sutharsan, J., Lichlyter, D., Wright, N. E., Dakanali, M., Haidekker, M. A. and Theodorakis, E. A. (2010). Molecular rotors: synthesis and evaluation as viscosity sensors. *Tetrahedron*, 66, 2582-2588.
34. Ablinger, E. Leitgeb, S. and Zimmer, A. (2013). Differential scanning fluorescence approach using a fluorescent molecular rotor to detect thermostability of proteins in surfactant-containing formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 441, 255-260.
35. Nagasaka, H.; Ohta, K. The European patent applications, EP 300,410, (1989) Chemical Abstracts. 1989, 110, 202873n.
36. Kutyrev, A. and Kappe, T. (1997). Methanetricarboxylates as key reagents for the simple preparation of heteroarylcarboxamides with potential biological activity. Part 1 : reaction of methanetricarboxylates with indoline and 1,2,3,4-tetrahydroquinoline. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 34,969.
37. Jones, H. O., Dunlop and J. D. M. (1912). The Configuration of Substituted Ammonium Compounds. *Journal of the Chemical Society, Transactions*. 101, 1748-1754.
38. Rindfusz, R. E. and Harnack, V. L. (1920). Heterocyclic compounds of N-arylamino alcohols. *Journal of the American Chemical Society*, 42, 1720-1725.
39. Glass, D. B.; Weissberger, A. (1946). Julolidine. *Organic Syntheses*, 26, 40-41.

40. Kost, A. N. and Yudin, L. G. (1957). Synthesis of julolidine structures. *Khimicheskaya Naukai Promyshlennost*, 2, 800.
41. Merchant, J. R. and Chothia, D. S. (1973). Synthesis of julolidines. *Current Science*, 42,746.
42. Katayama, H., Abe, E., and Kaneko, K. (1982). Synthesis of julolidines from anilines. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 19, 925-926.
43. Katayama, H., Ohgoshi, M., Tanaka, N., Abe, E. and Kaneko, K. (1983). Problems and improvements in the synthesis of julolidines. *Niigata Yakka Daigaku Kenkyu Hokoku*, 3, 27-36.
44. Silhankova, A., Trska, P., Vlkova, D. and Ferles, M. (1985). Quinoline and isoquinoline derivatives. XIII. Preparation of some derivatives of benzo[*ij*]quinolizine. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 50, 1048-1056.
45. Lingam, V. S. P. R., Thomas, A., Mukkanti, K. and Gopalan, B. (2011). Simple and convenient approach for synthesis of tetrahydroquinoline derivatives and studies on aza-cope rearrangement. *Synthetic Communications*, 41, 1809-1828.
46. Katritzky, A. R. Rachwal, B., Rachwal S. and Abboud, K. A. (1996). Convenient synthesis of julolidines using benzotriazole methodology. *Journal of Organic Chemistry*, 61, 3117-3126.
47. Wirtz, L. and Kazmaier, U. (2011). A mild titanium-catalyzed synthesis of functionalized amino coumarins as fluorescence labels. *European Journal of Organic Chemistry*, 43, 7062-7065.
48. Wang, H., Lu, Z., Lord, S. J., Willets, K. A., Bertke, J. A., Bunge, S. D., Moerner, W. E., Twieg, R. J. (2007). The influence of tetrahydroquinoline rings in dicyanomethylene-dihydrofuran (DCDHF) single-molecule fluorophores. *Tetrahedron*, 63, 103-114.
49. Shao, J., Ji, S., Li, X., Zhao, J., Zhou, F. and Guo, H. (2011). Thiophene-inserted aryl-dicyanovinyl compound: the second generation of fluorescent molecular rotors with significantly redshifted emission and large stokes shift. *European Journal of Organic Chemistry*, 6100-6109.
50. Liu, S., Wang, W. H., Dang, Y. L., Fu, Y. and Sang, R. (2012). Rational design and efficient synthesis of a fluorescent-labeled jasmonate. *Tetrahedron Letters*, 53, 4235-4239.
51. Piloto, A. M., Hungerford, G., Costa, S. P. G. and Goncalves, M. S. T. (2013). Photoinduced release of neurotransmitter amino acids from coumarin-fused julolidine ester cages. *European Journal of Organic Chemistry*, 7715-7723.

- 52.** Wu, G., Kong, F., Li, J., Chen, W., Fang, X., Zhang, C., Chen, Q., Zhang, X. and Dai, S. (2013). Influence of different acceptor groups in julolidine-based organic dye-sensitized solar cells. *Dyes and Pigments*, 99, 653-660.
- 53.** Jung, H. L., Sang, H. L., Yun, A. S., Gyeong, J. P. and Cheal, K. (2015). Simultaneous detection of F⁻ and CN⁻ by a simple colorimetric chemosensor with high selectivity. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 1618-1624.
- 54.** Sundararaju, B., Tang, Z., Achard, M., Sharma, G. V. M., Bruneau, C. (2010). Ruthenium-catalyzed cascade n- and C(3)-dialkylation of cyclic amines with alcohols involving hydrogen autotransfer processes. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 352, 3141.
- 55.** Tsuji, Y., Nishimura, H., Huh, K. T. and Watanabe, Y. A. (1985). Novel route to quinoline derivatives from 1,3-propanediol and aminoarenes: Ruthenium catalyzed heterocyclization under non-acidic conditions. *Journal of Organometallic Chemistry*, 286, c44-c46.
- 56.** Lacroix, S. D., Pennycook, A., Liu, S., Eisenhart, T. T. and Marr, A. (2012). Amination and dehydration of 1,3-propanediol by hydrogen transfer: Reactions of a bio-renewable platform chemical. *Catalysis Science and Technology*, 2, 288-290.
- 57.** a) Masson, G., Lalli, C., Benohoud, M. and Dagousset, G. (2013). Catalytic enantioselective [4 + 2]-cycloaddition: A strategy to access aza-hexacycles. *Chemical Society Reviews*, 42, 902-923. b) Jiang, X. X. and Wang, R. (2013). *Chemical Reviews*, 113, 5515.
- 58.** Legros, J., Crousse, B., Ourvitch, M. and Bonnet-Delpon, D. (2006). Facile synthesis of tetrahydroquinolines and julolidines through multicomponent reaction. *Synlett*, 1899-1902.
- 59.** Min, C., Sanchawala, A. and Seidel, D. (2014). Dual C-H functionalization of N-aryl amines: Synthesis of polycyclic amines via an oxidative Povarov approach. *Organic Letters*, 16, 2756-2759.
- 60.** Sahli, Z., Sundararaju, B., Achard, M. and Bruneau, C. (2011). Ruthenium-catalyzed reductive amination of allylic alcohols. *Organic Letters*, 13, 3964-3967.
- 61.** Vieira, T. O., Alper, H. (2007). Rhodium(I)-catalyzed hydroaminomethylation of 2 isopropenylanilines as a novel route to 1,2,3,4-tetrahydroquinolines. *Chemical Communications*. 2710-2711.

ANNEXE

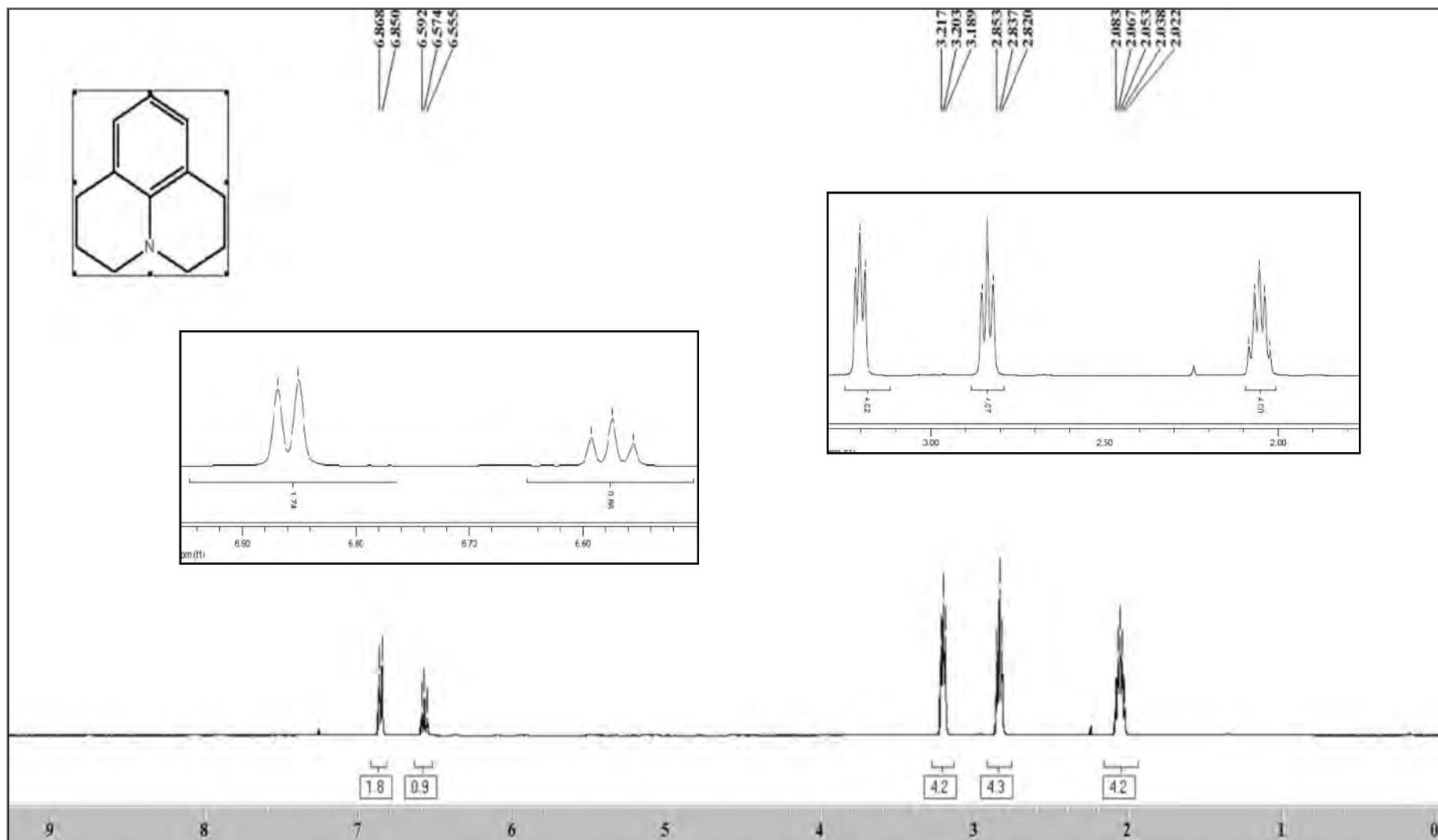


Figure A1: Spectre RMN ^1H du composé **3a** : 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(julolidine) (400 MHz, CDCl_3)

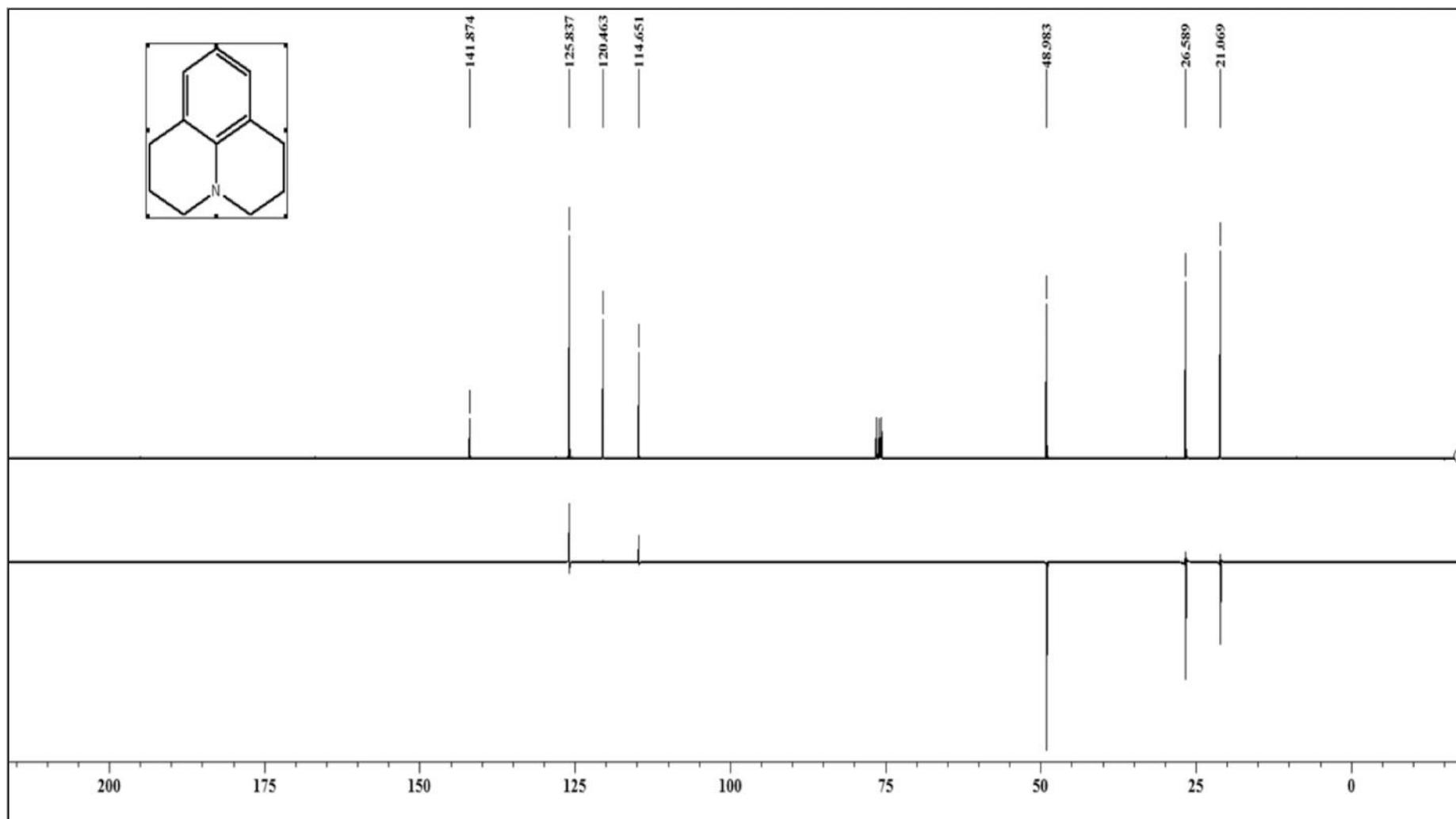


Figure A2: Spectre RMN ^{13}C du composé **3a** : 2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(julolidine) (100 MHz, CDCl_3)

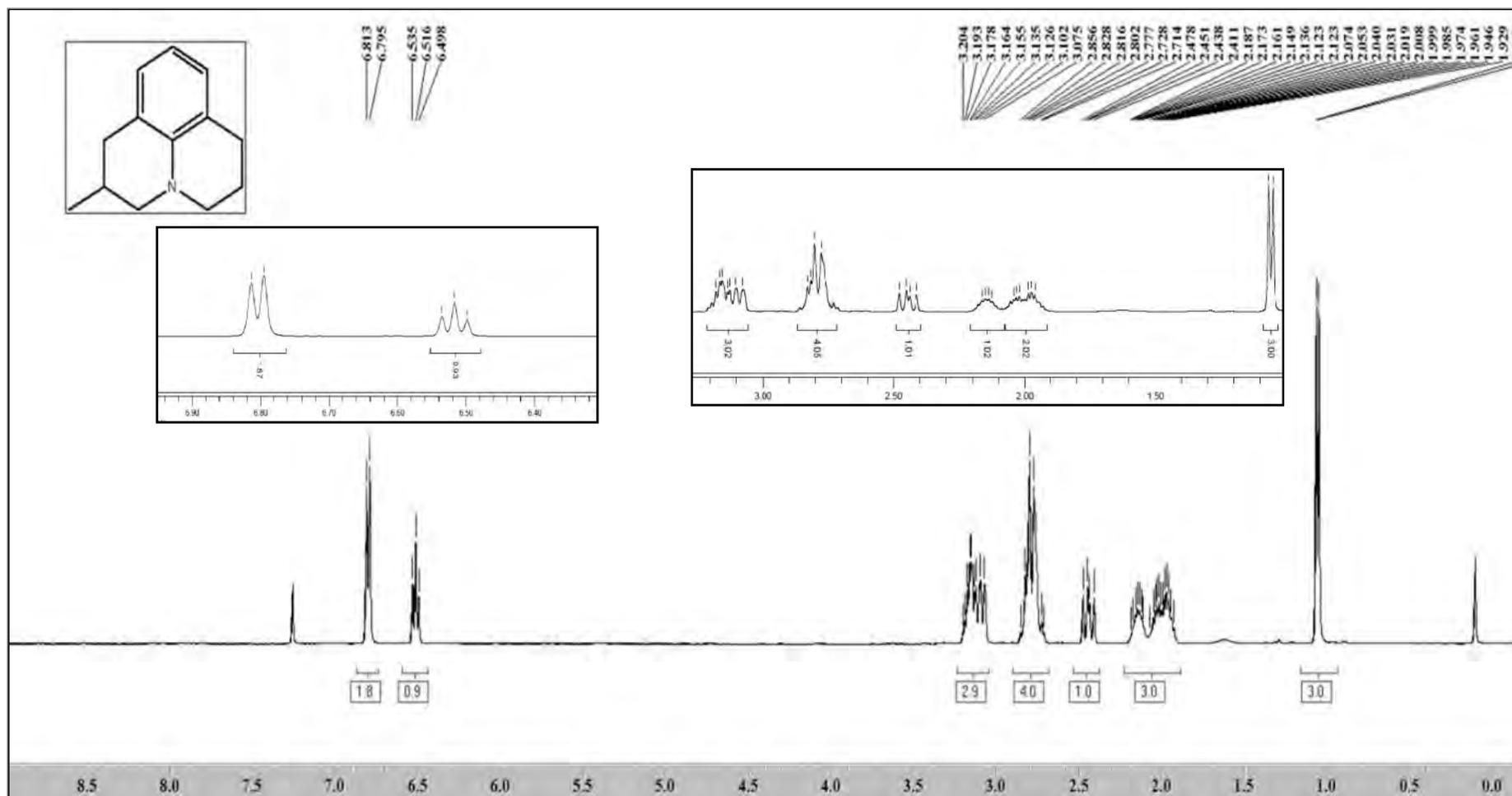


Figure A3: Spectre RMN ^1H du composé **3b** 2-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(2-méthyljulolidine) (400 MHz, CDCl_3)

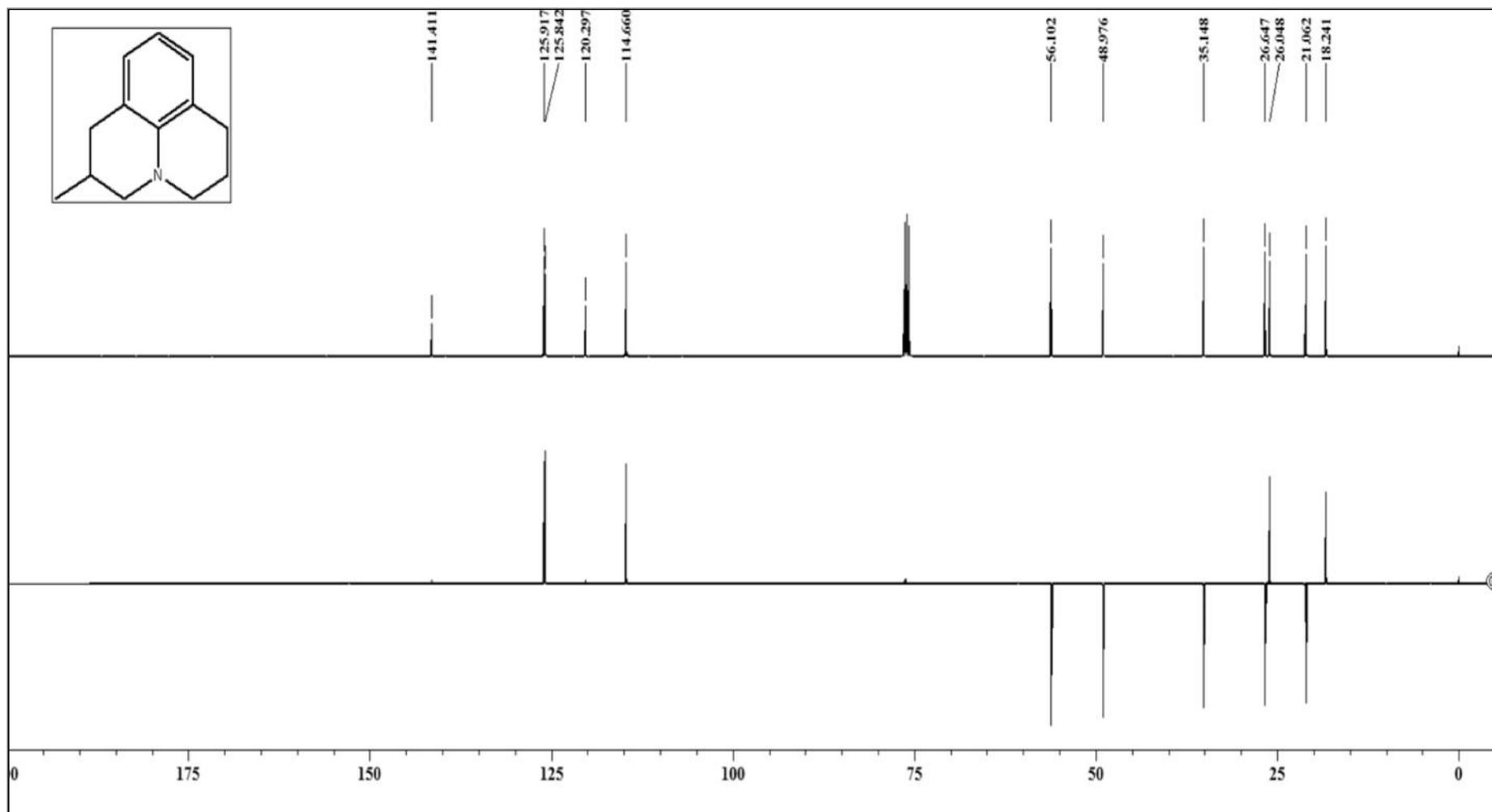


Figure A4: Spectre RMN ¹³C et DEPT 135 du composé **3b** 2-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(2-méthyljulolidine) (100 MHz, CDCl₃)

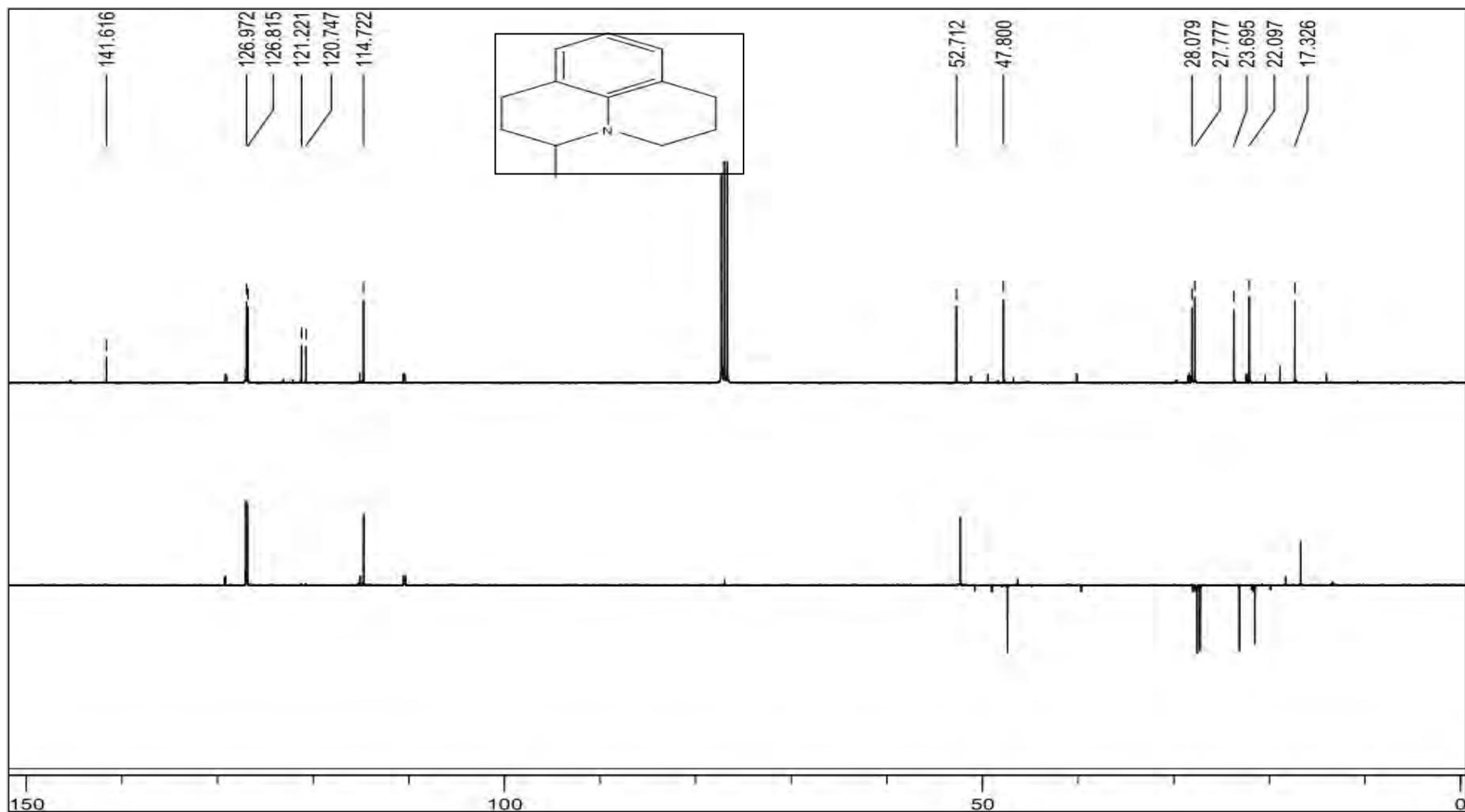


Figure A6: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **3c** : 3-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/(3-méthyljulolidine)
(75 MHz, CDCl_3)

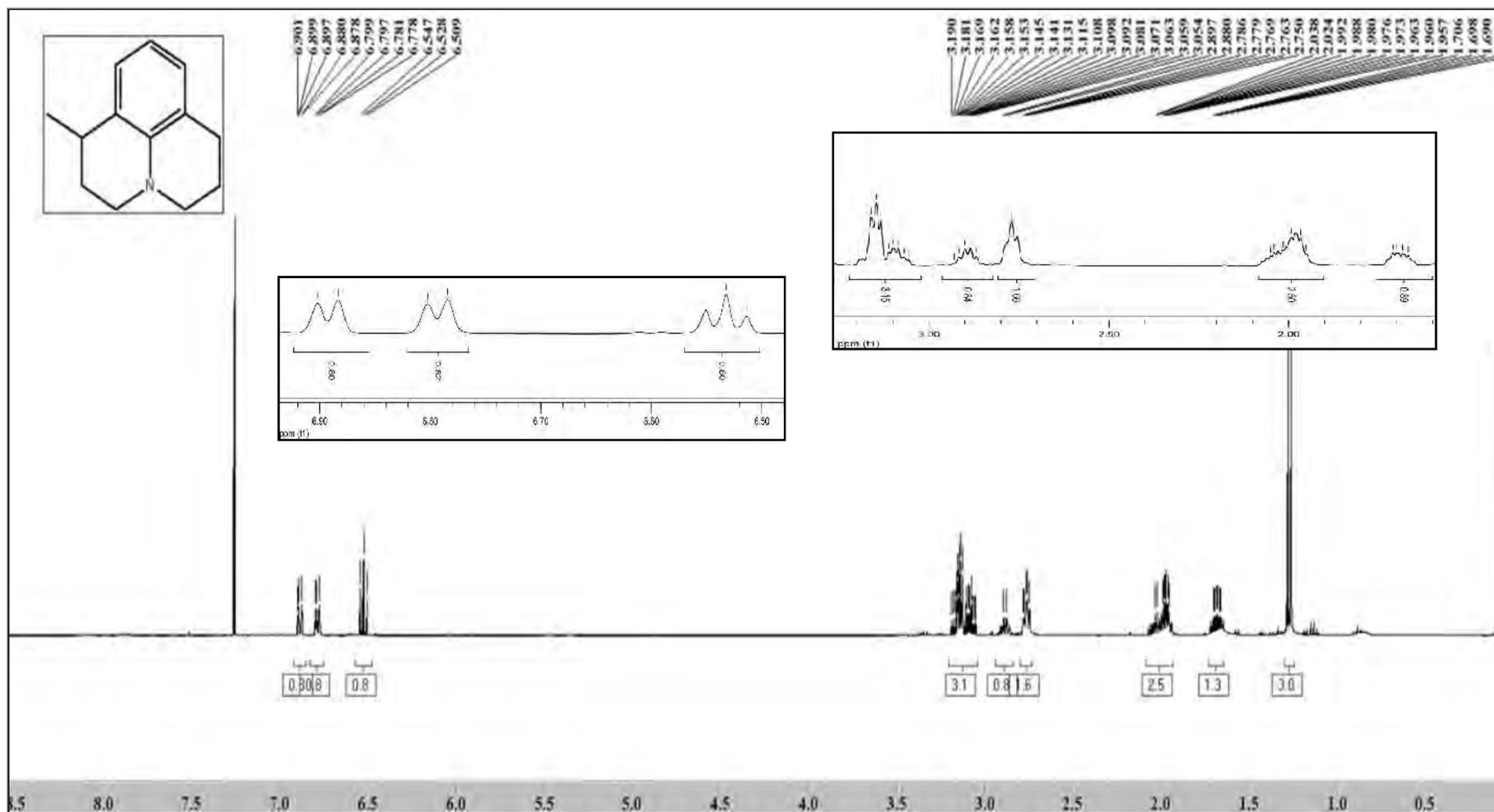


Figure A7: Spectre RMN ^1H du composé **3d** : 1-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/ (1-méthyljulolidine)
(500 MHz, CDCl_3)

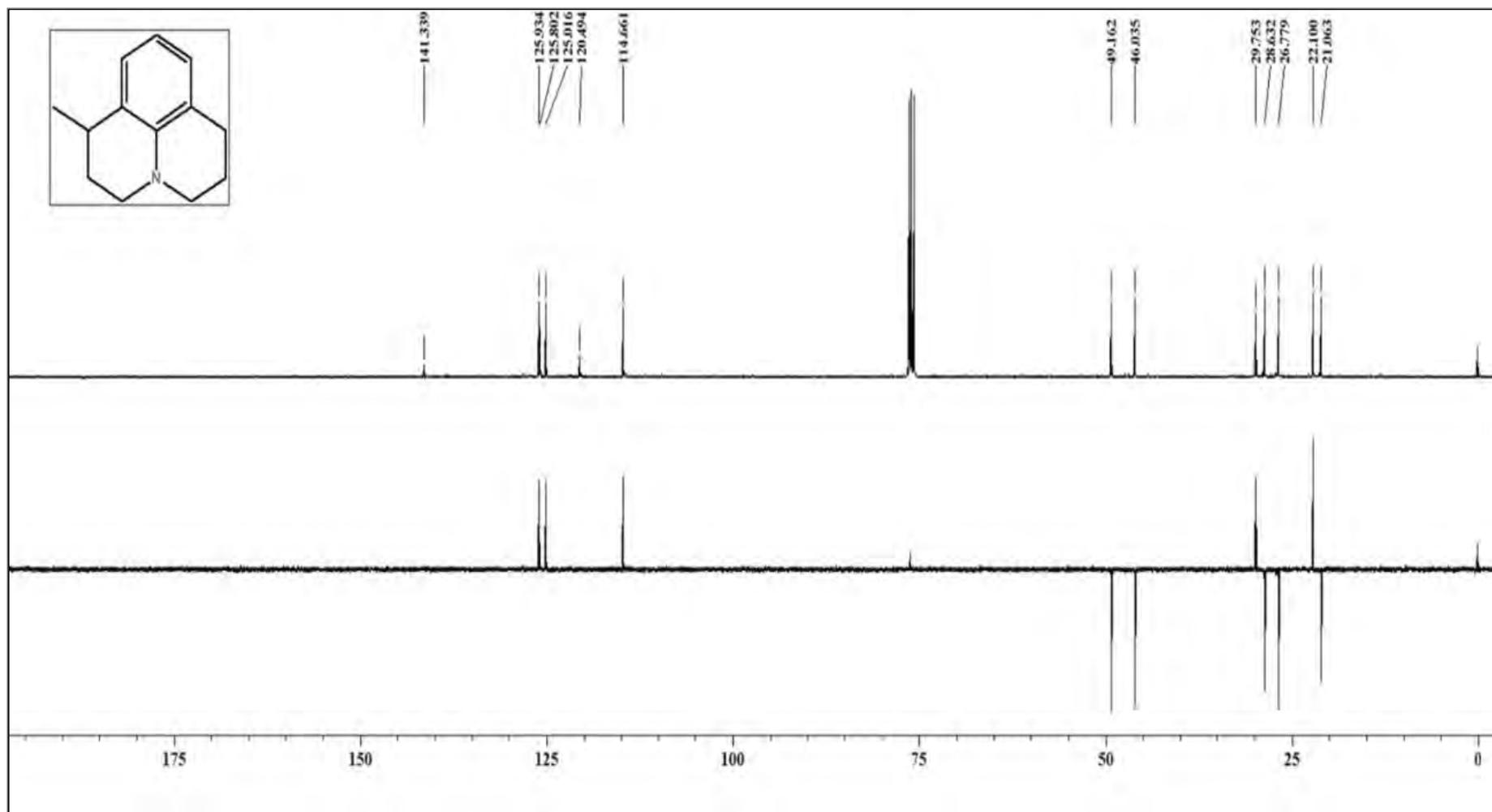


Figure A8: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **3d** : 1-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/ (1-méthyljulolidine) (125 MHz, CDCl_3)

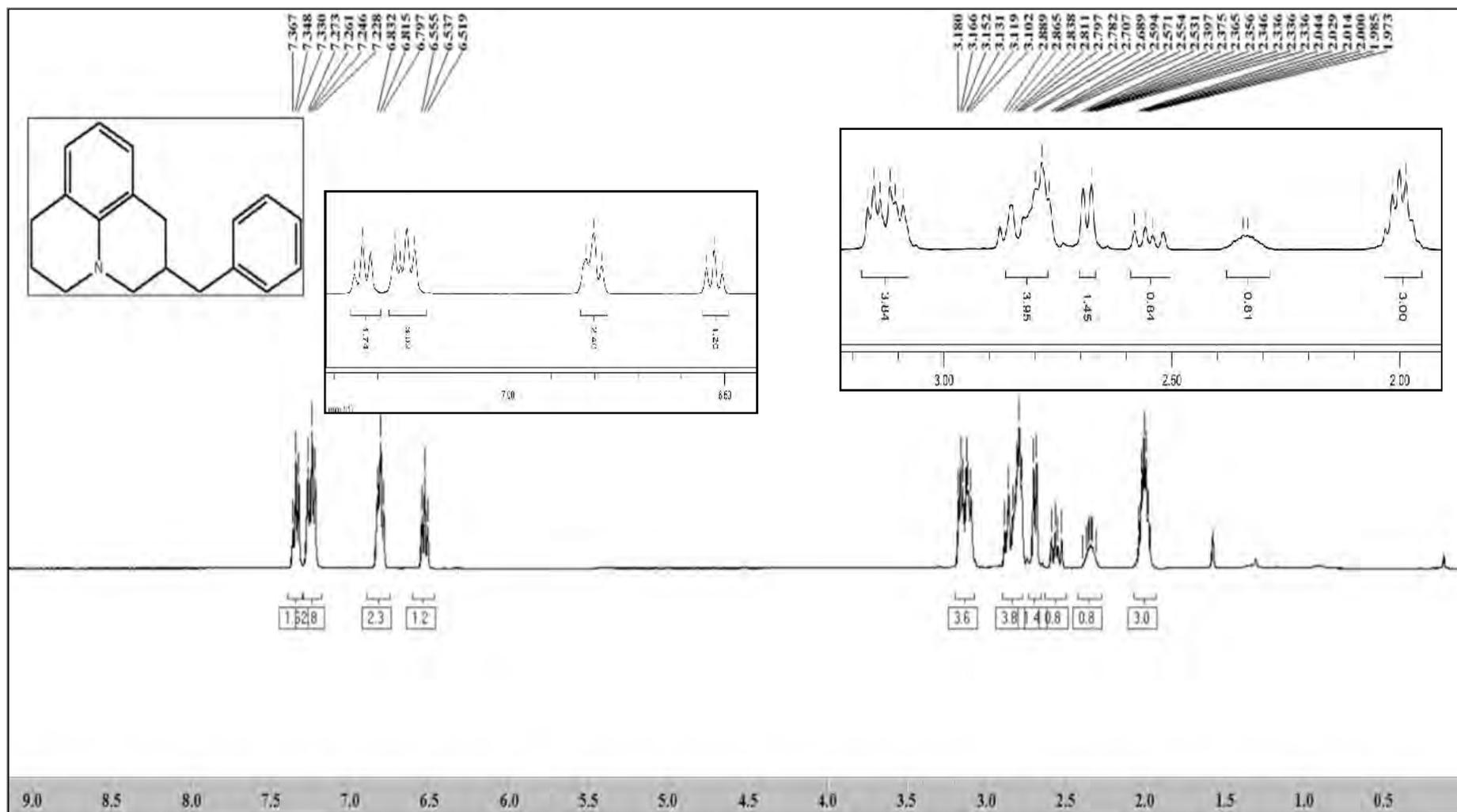


Figure A9: Spectre RMN ^1H du composé **5a** : 2-benzyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/ 2-benzyljulolidine (400 MHz, CDCl_3)

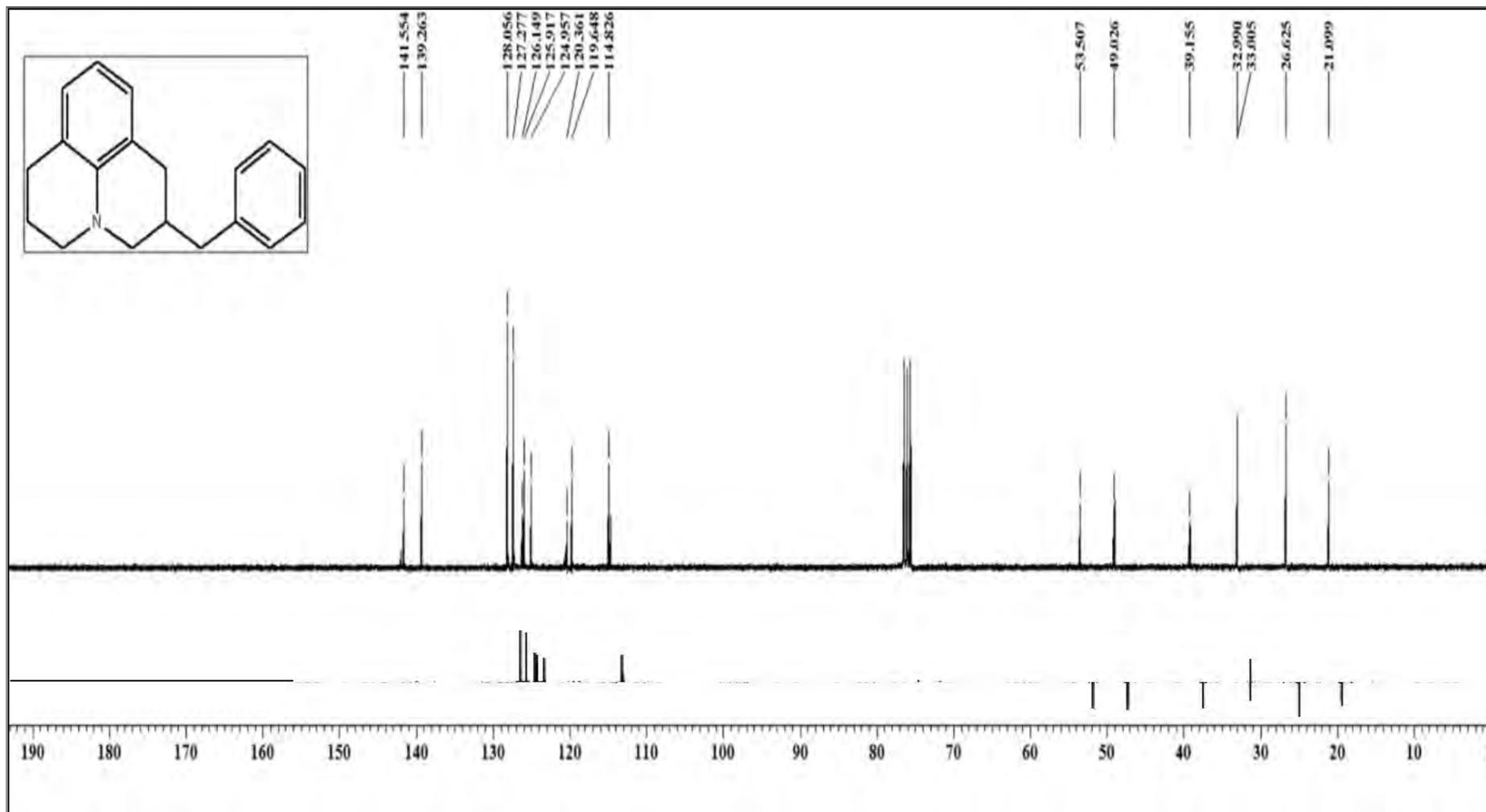


Figure A10: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5a** : 2-benzyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/ 2-benzyljulolidine (100 MHz, CDCl_3)

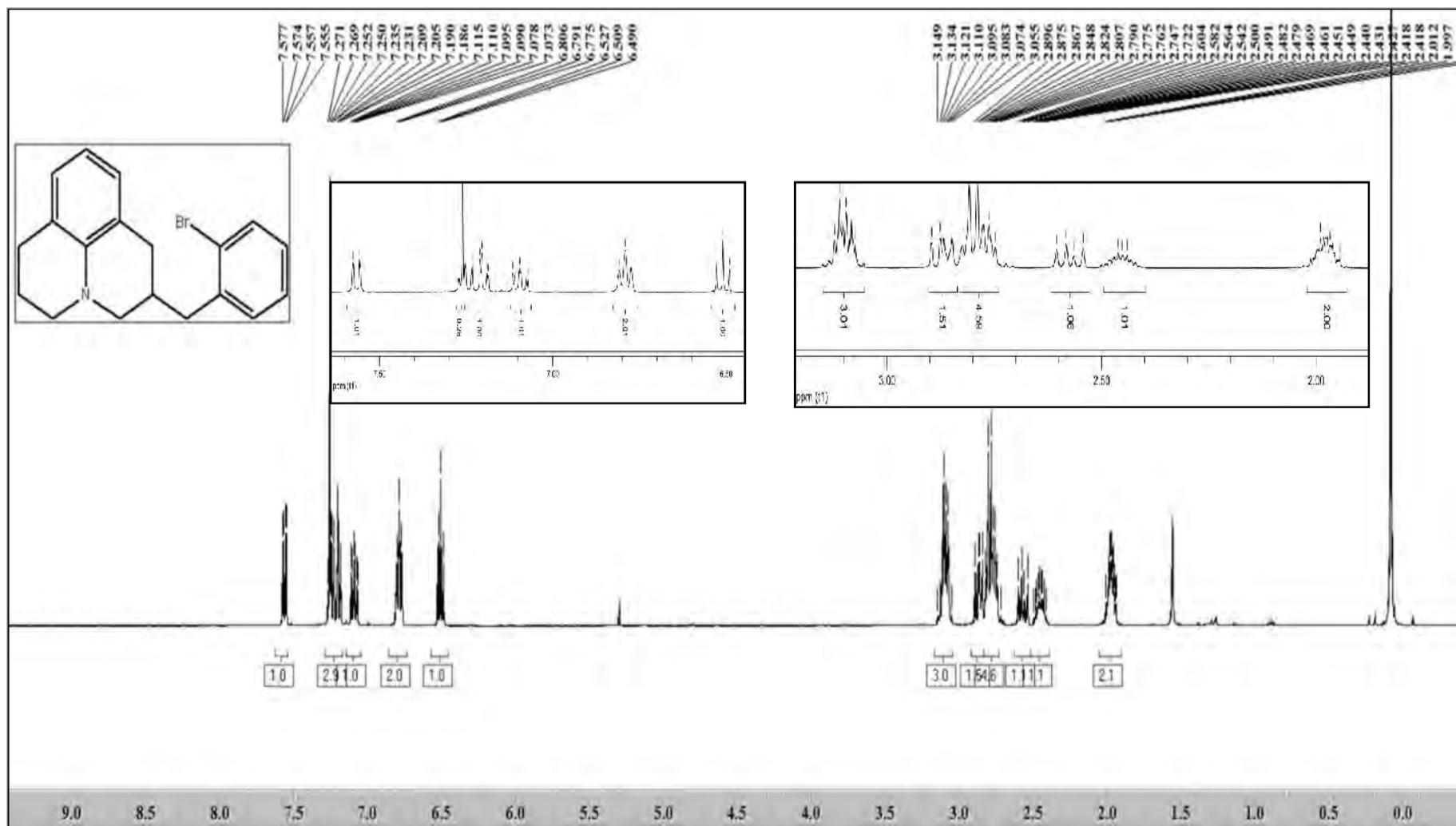


Figure A11: Spectre RMN ^1H du composé **5b** : 2-(2-bromobényl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/2-(*o*-bromobényl) julolidine (500 MHz, CDCl_3)

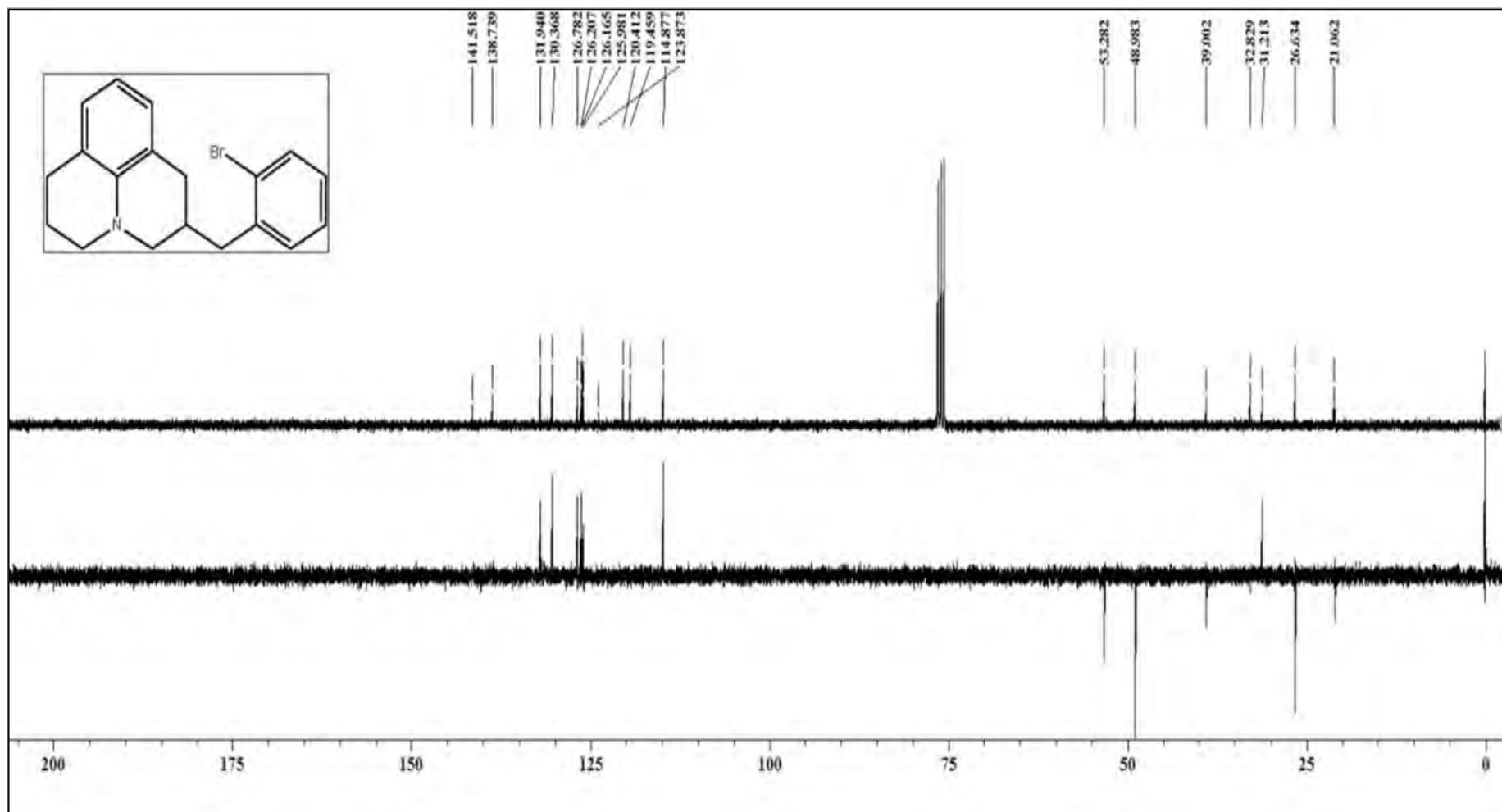


Figure A12: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5b** : 2-(2-bromobenzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolène/2-(*o*-bromobenzyl) julolidine (125 MHz, CDCl_3)

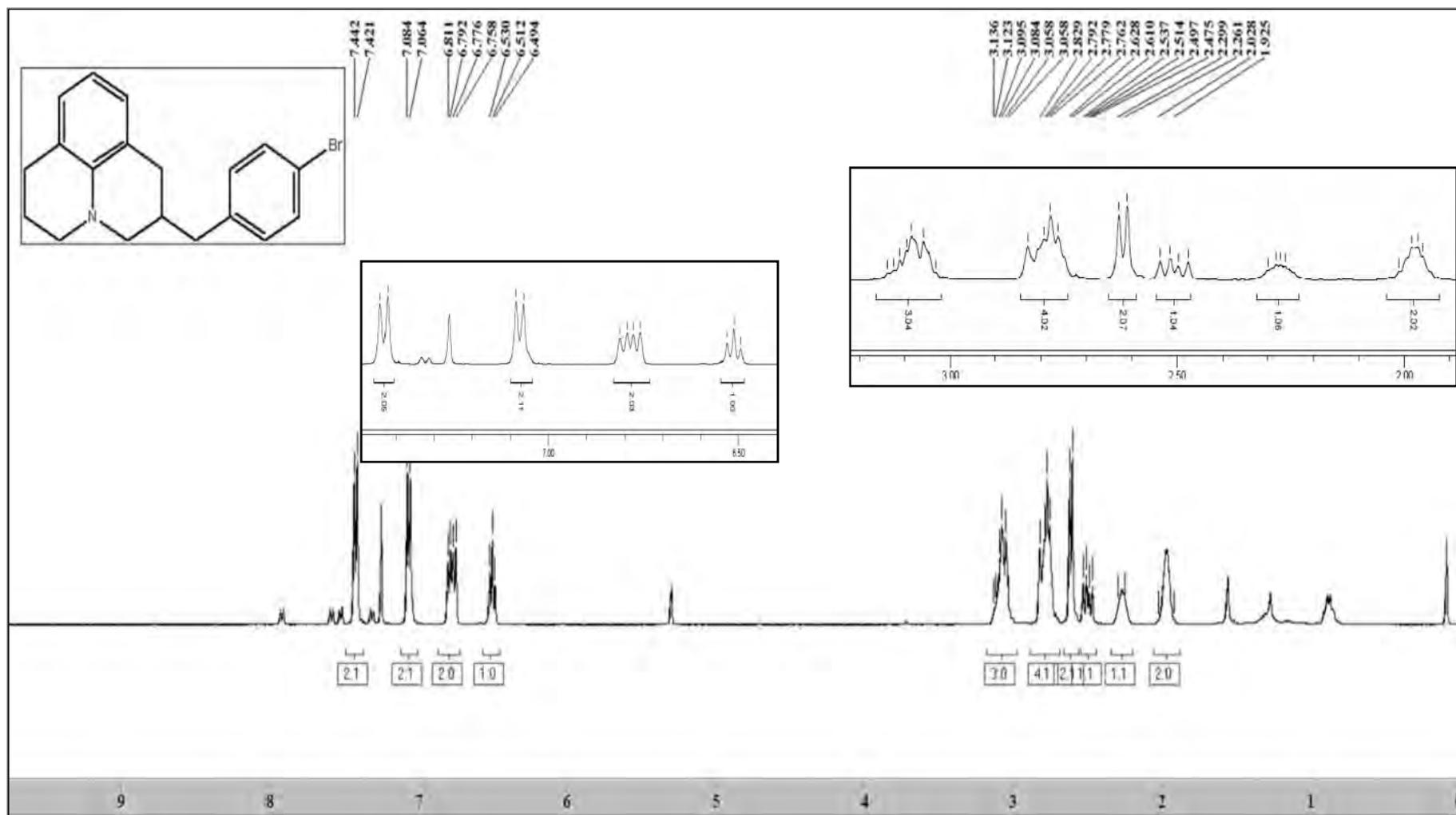


Figure A13: Spectre RMN ¹H du composé **5c** : 2-(4-bromobenzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2-*i*]-quinoléine/2-(*p*-bromobenzyl)-Julolidine (400 MHz, CDCl₃)

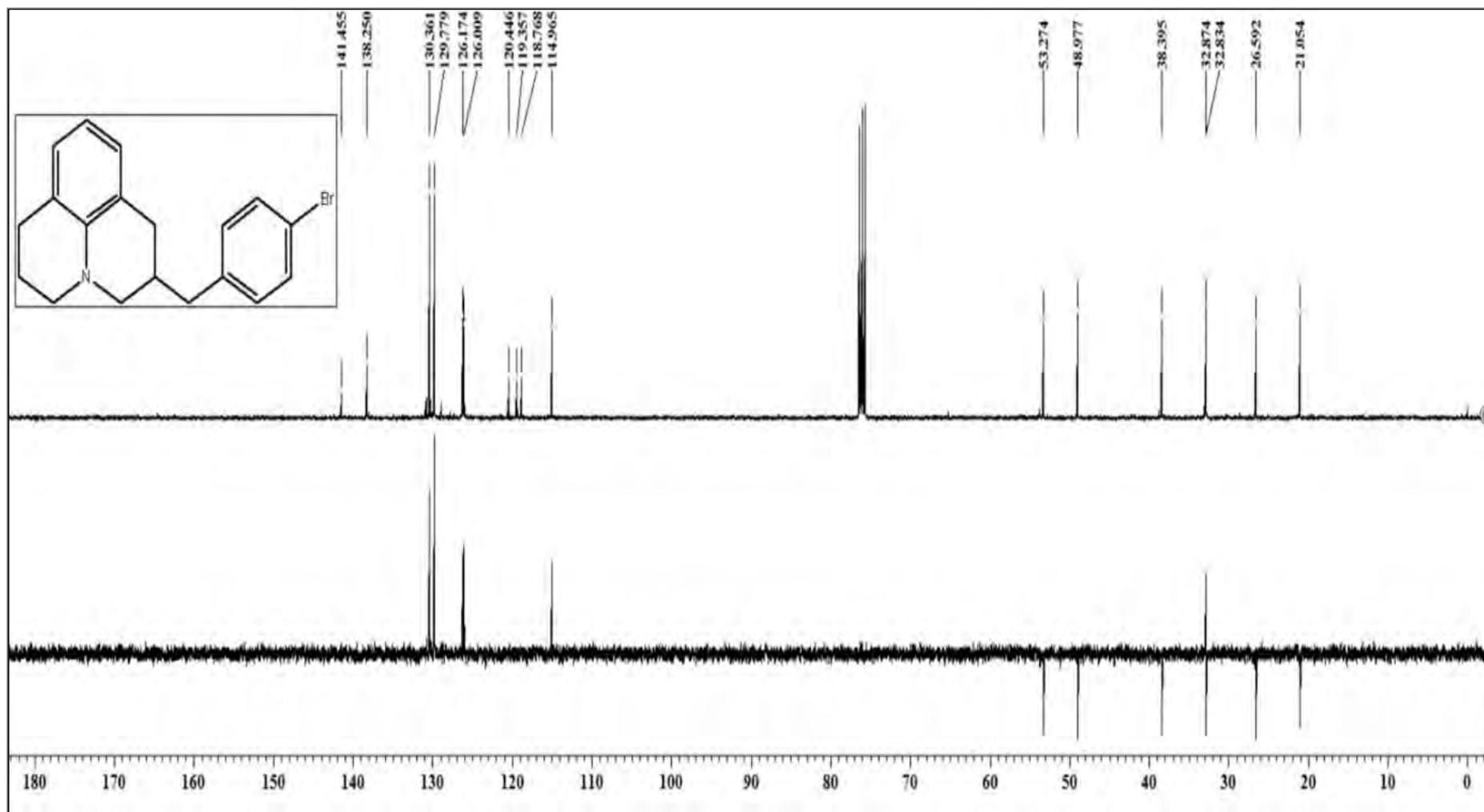


Figure A14: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5c** : 2-(4-bromobenzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/2-(*p*-bromobenzyl)-Julolidine (100 MHz, CDCl_3)

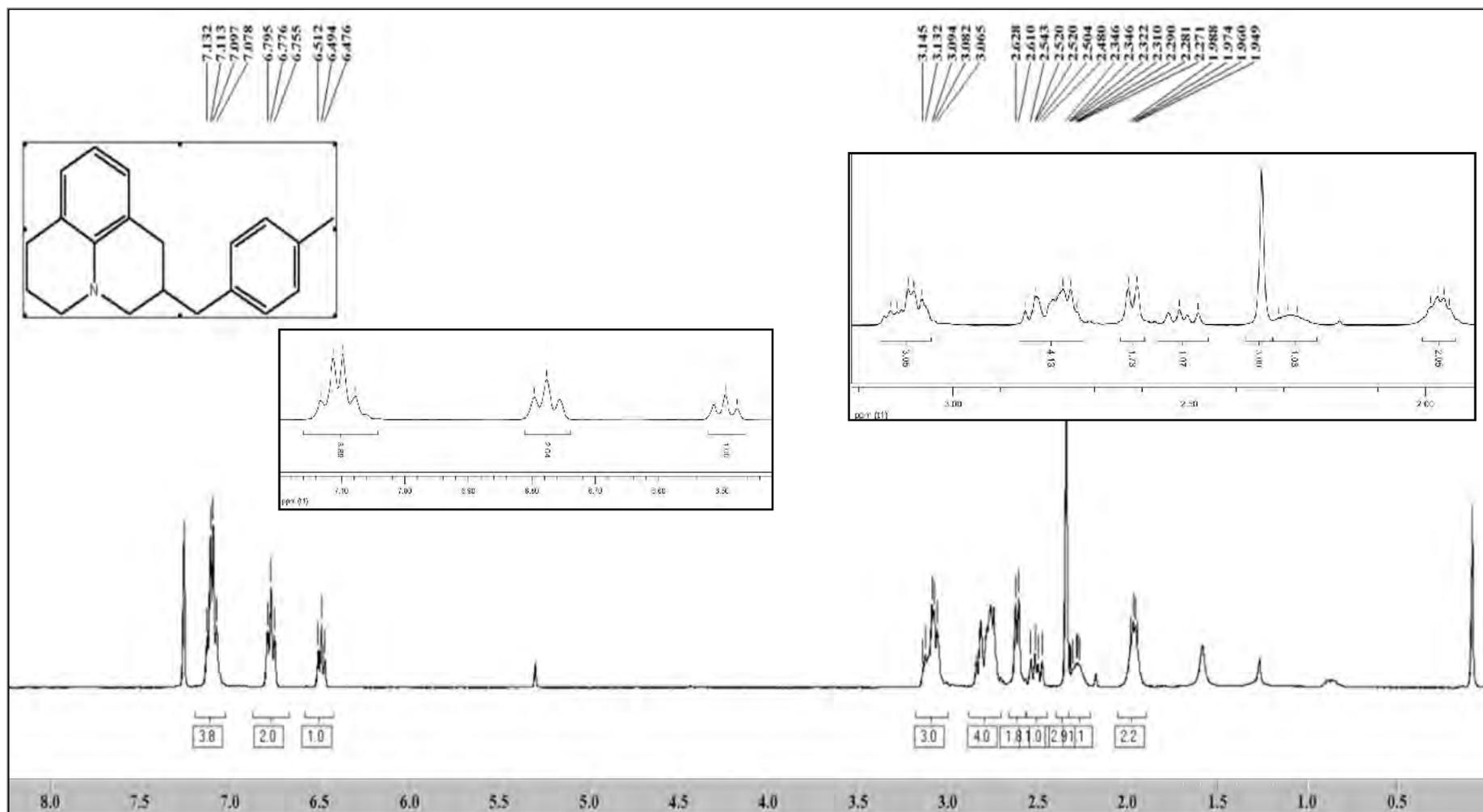


Figure A15: Spectre RMN ¹H du composé **5d** : 2-(4-méthylbénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/2-(4'-méthylbénzyl)-Julolidine (400 MHz, CDCl₃)

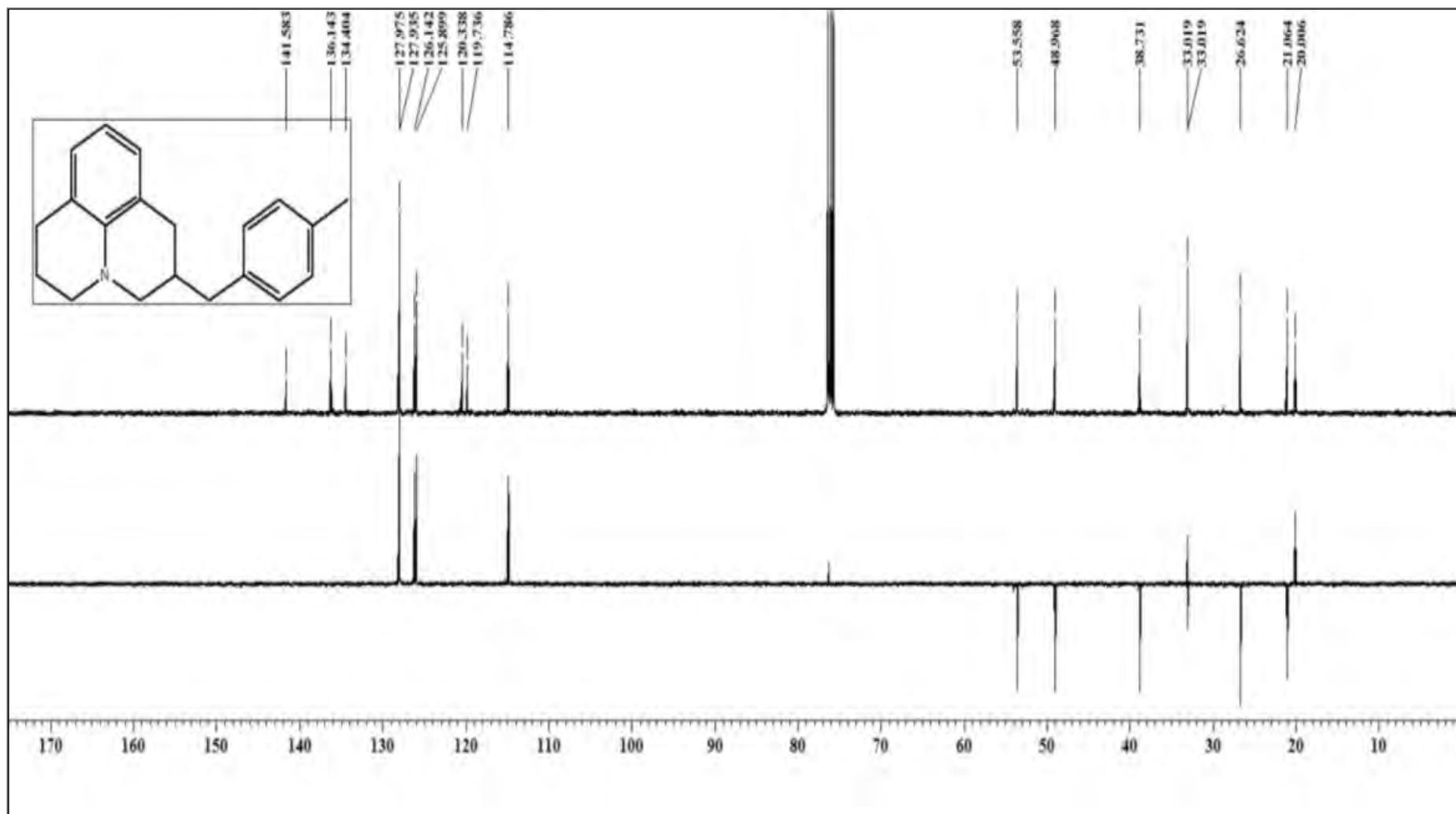


Figure A16: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5d** : 2-(4-méthylbénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine/2-(4'-méthylbénzyl)-Julolidine (100 MHz, CDCl_3)

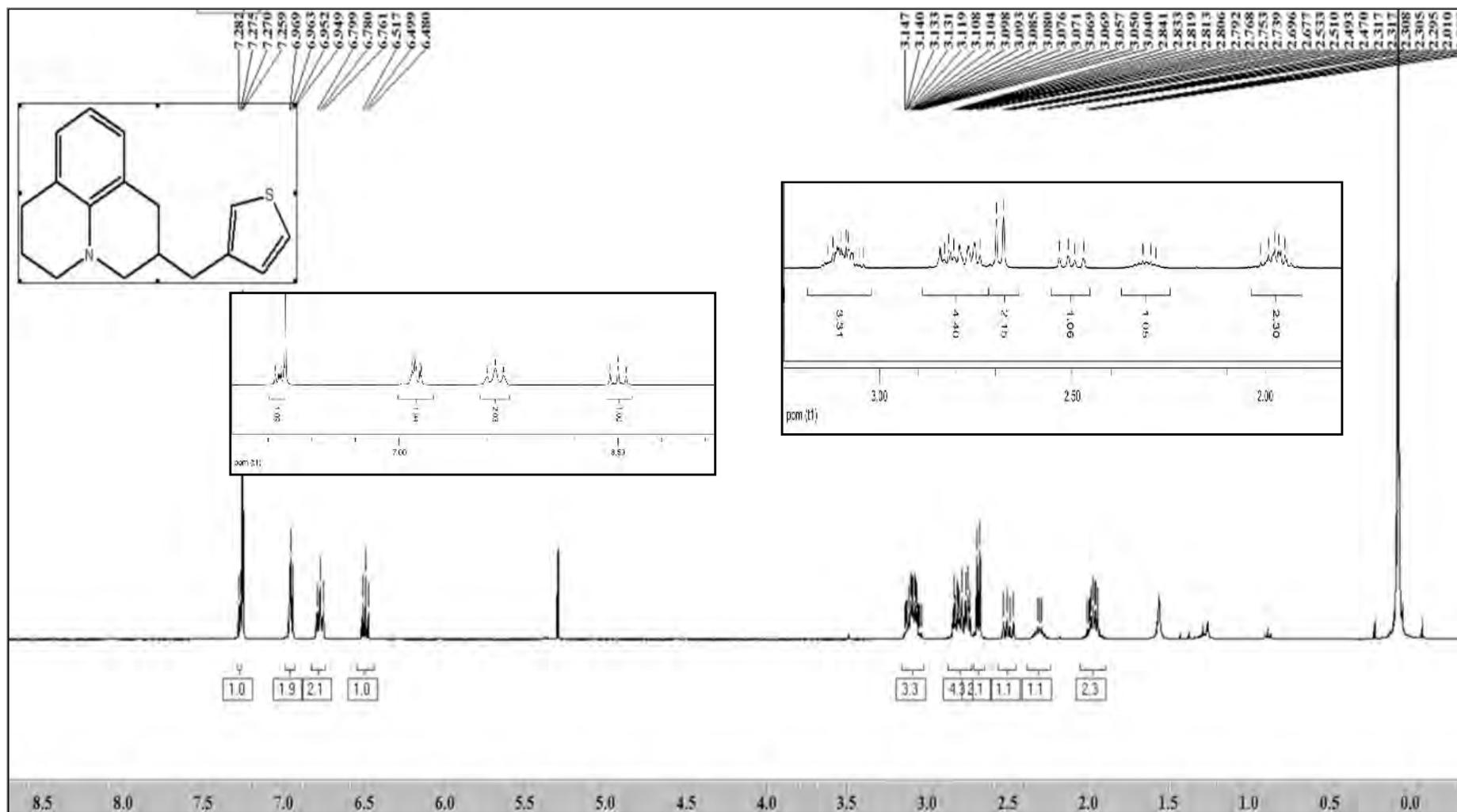


Figure A17: Spectre RMN ¹H du composé **5e** :2-(thiophèn-3-ylméthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (300 MHz, CDCl₃)

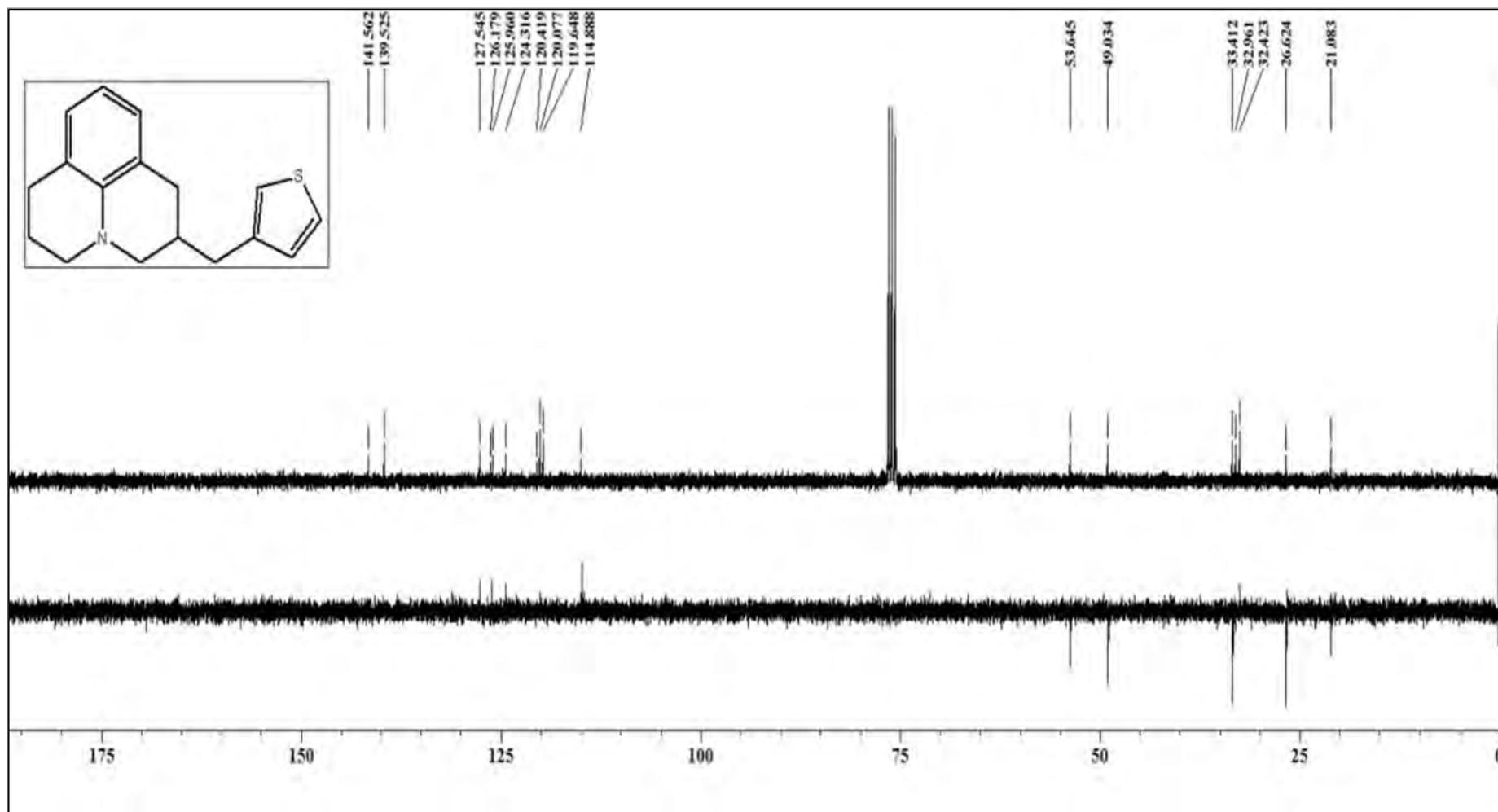


Figure A18: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5e** :2-(thiophèn-3-ylméthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (75 MHz, CDCl_3)

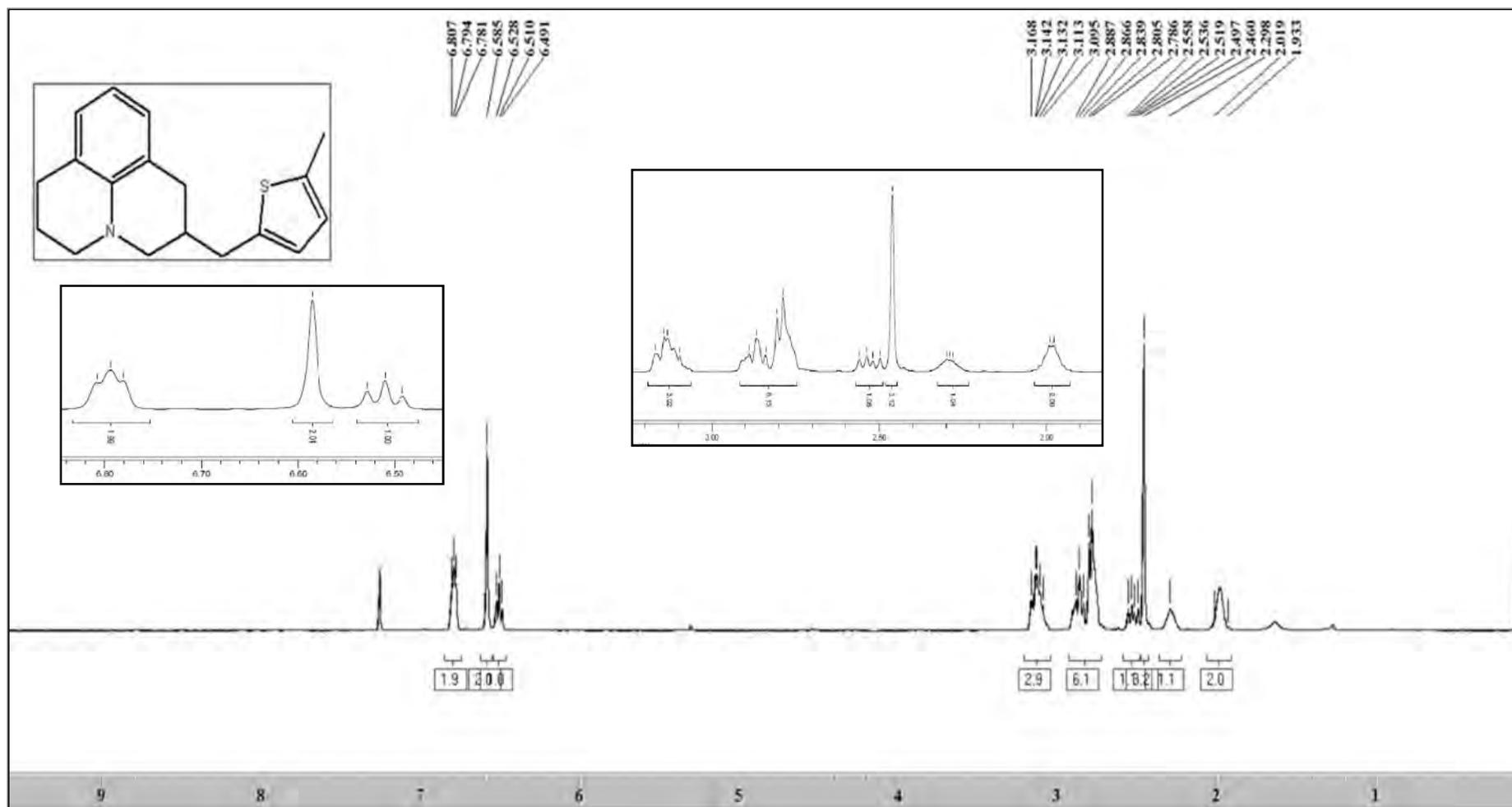


Figure A19: Spectre RMN ^1H du composé **5f** : 2-((5-méthylthiophèn-2-yl)méthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (400 MHz, CDCl_3)

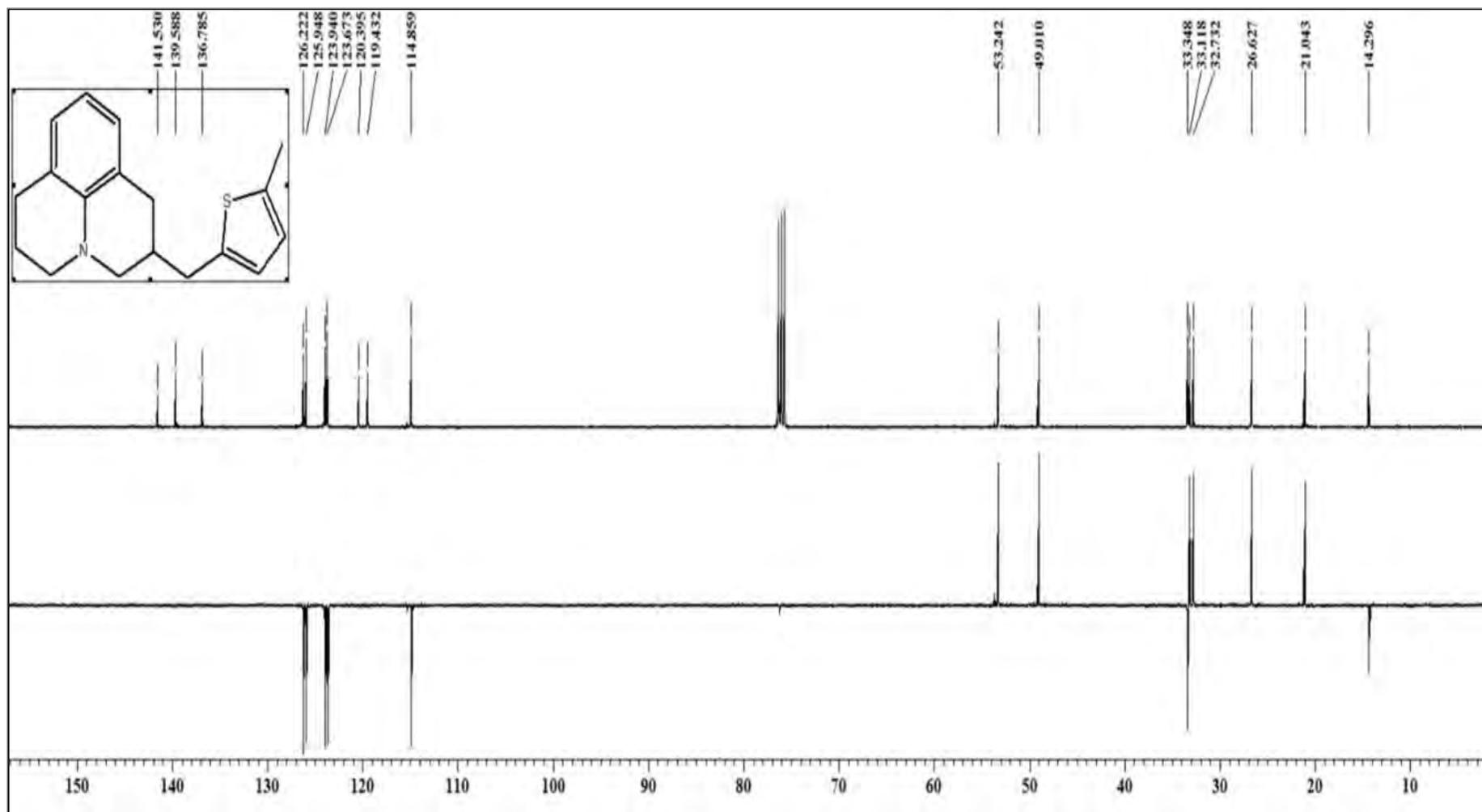


Figure A20: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5f** : 2-((5-méthylthiophèn-2-yl)méthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij]quinoléine (100 MHz, CDCl_3)

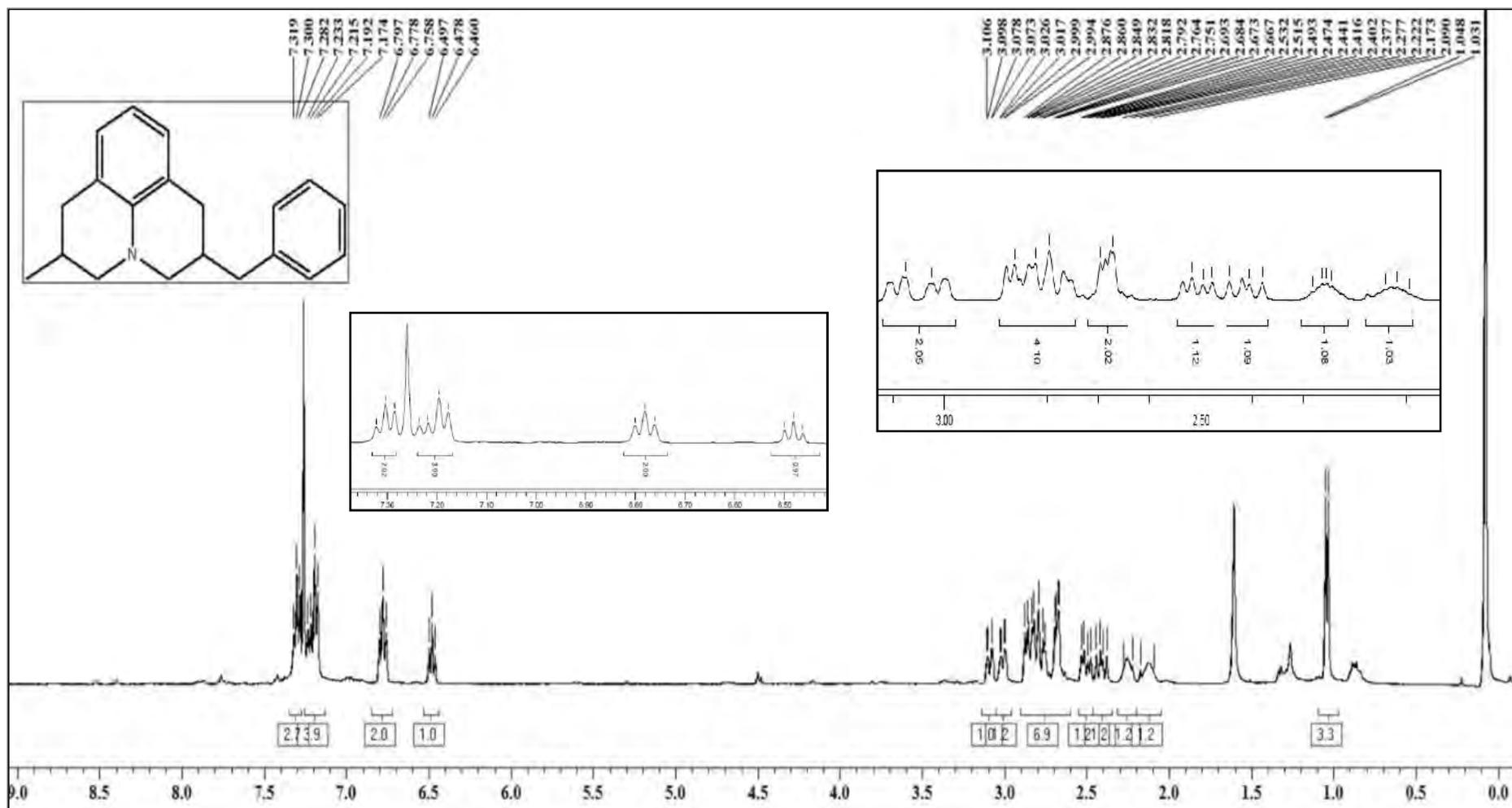


Figure A21: Spectre RMN ¹H du composé **5g** : 2-benzyl-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (400 MHz, CDCl₃)

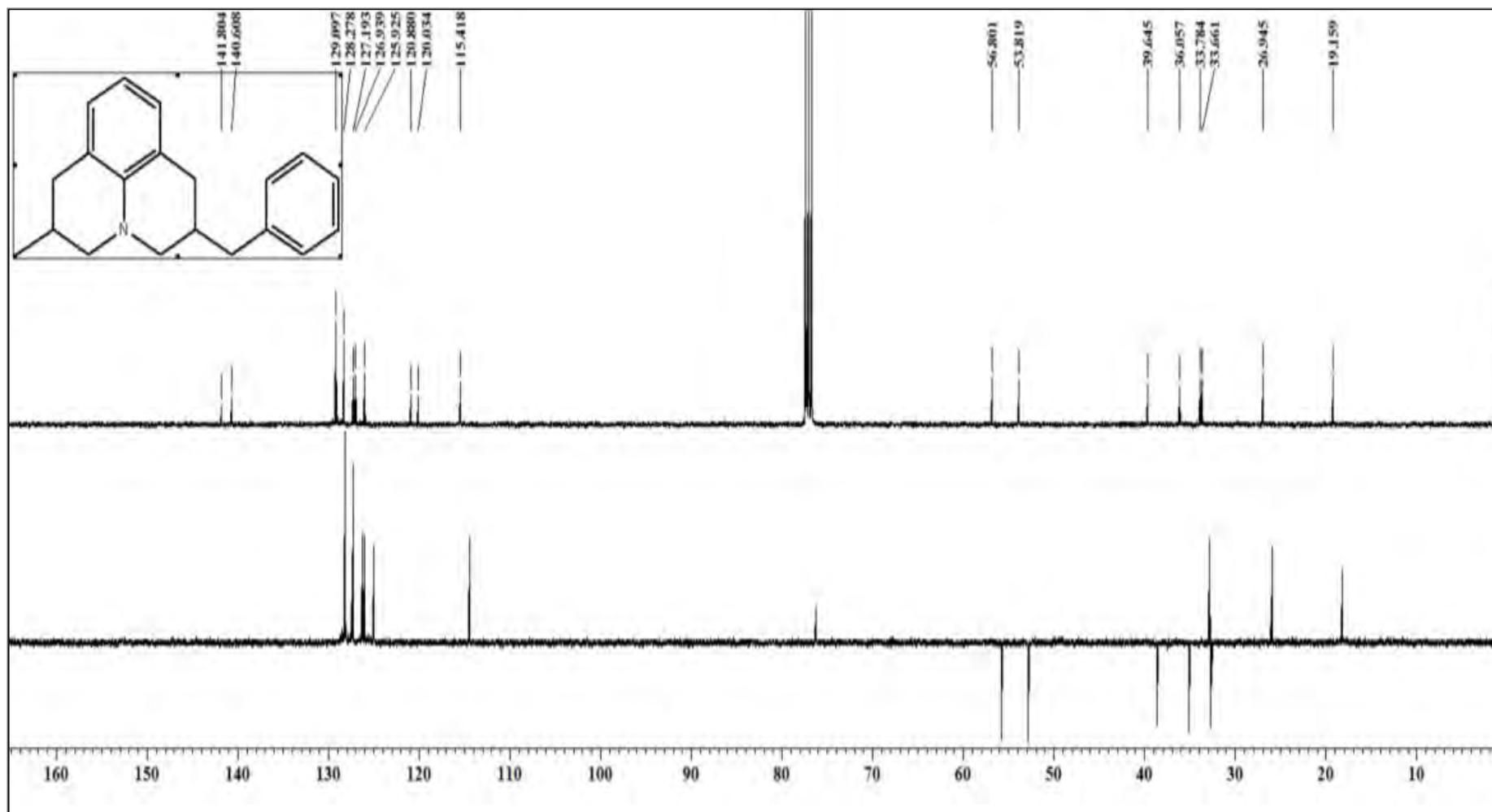


Figure A22: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5g** : 2-benzyl-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (100 MHz, CDCl_3)

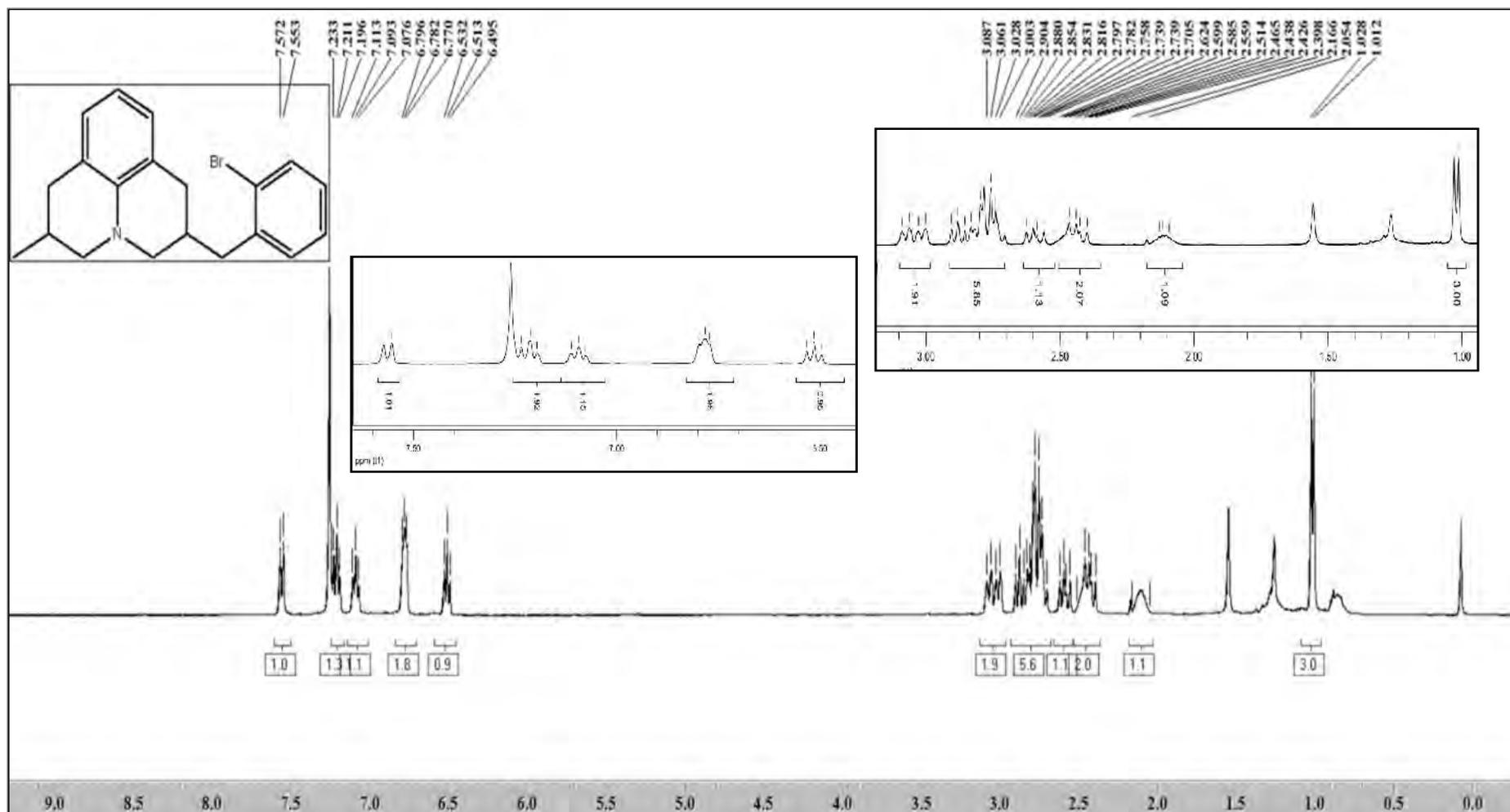


Figure A23: Spectre RMN ^1H du composé **5h** : 2-(2-bromobenzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (300 MHz, CDCl_3)

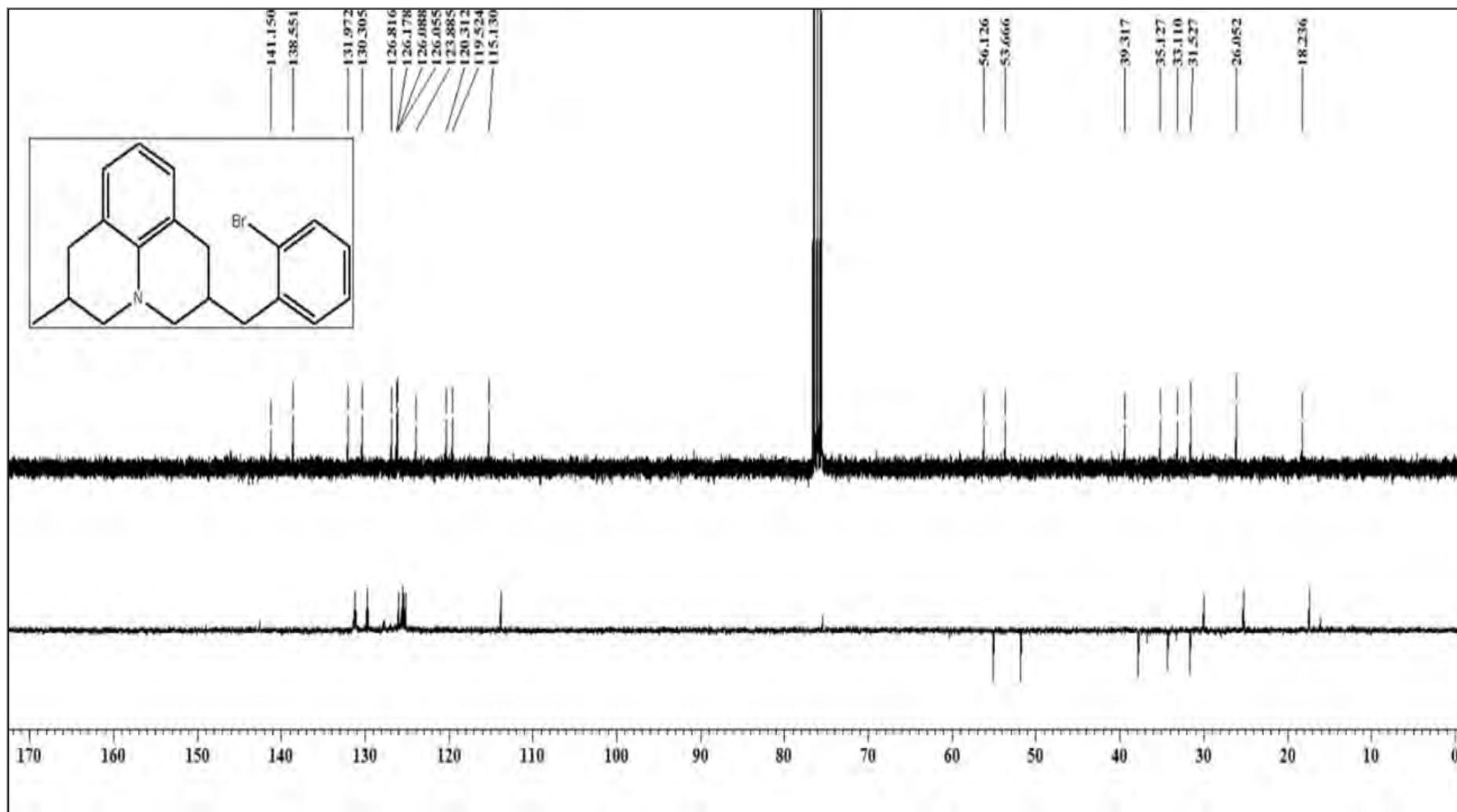


Figure A24: Spectre RMN ¹³C et DEPT 135 du composé **5h** : 2-(2-bromobenzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido [3,2,1-ij]quinoléine (75 MHz, CDCl₃)

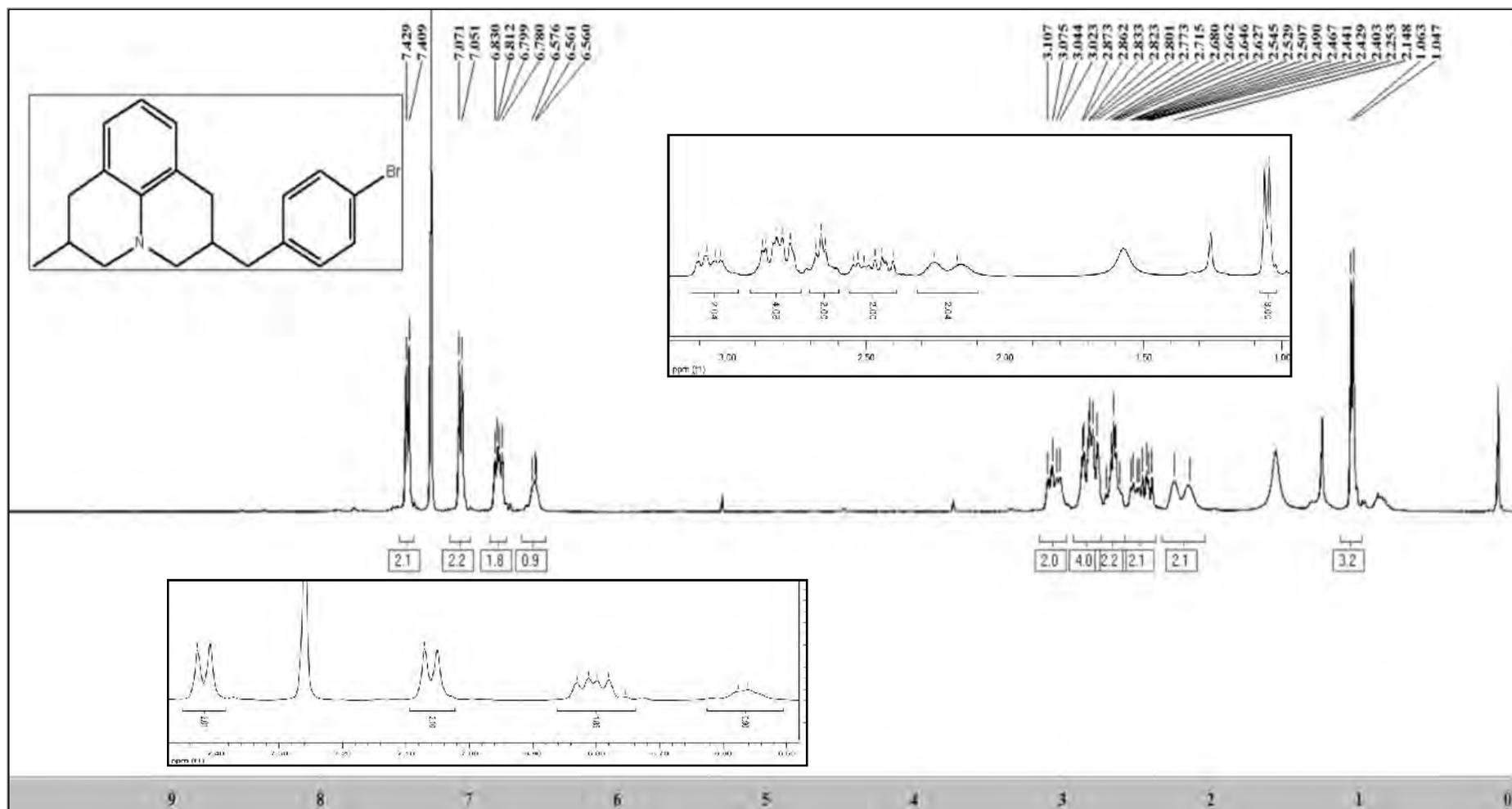


Figure A25: Spectre RMN ^1H du composé **5i** : 2-(4-bromobenzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (400 MHz, CDCl_3)

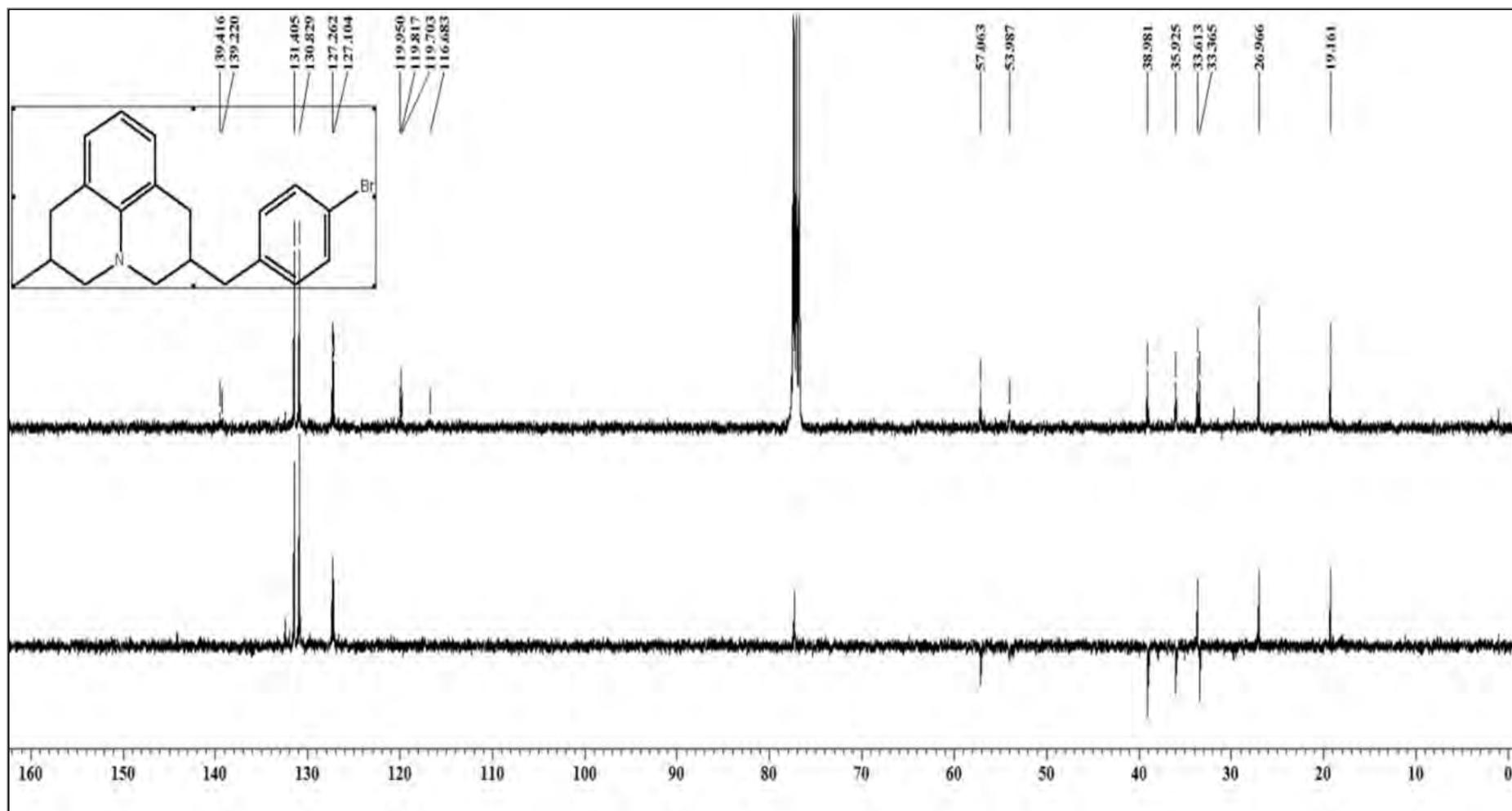


Figure A26: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **5i** : 2-(4-bromobenzyl)-6-méthyl-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (100 MHz, CDCl_3)

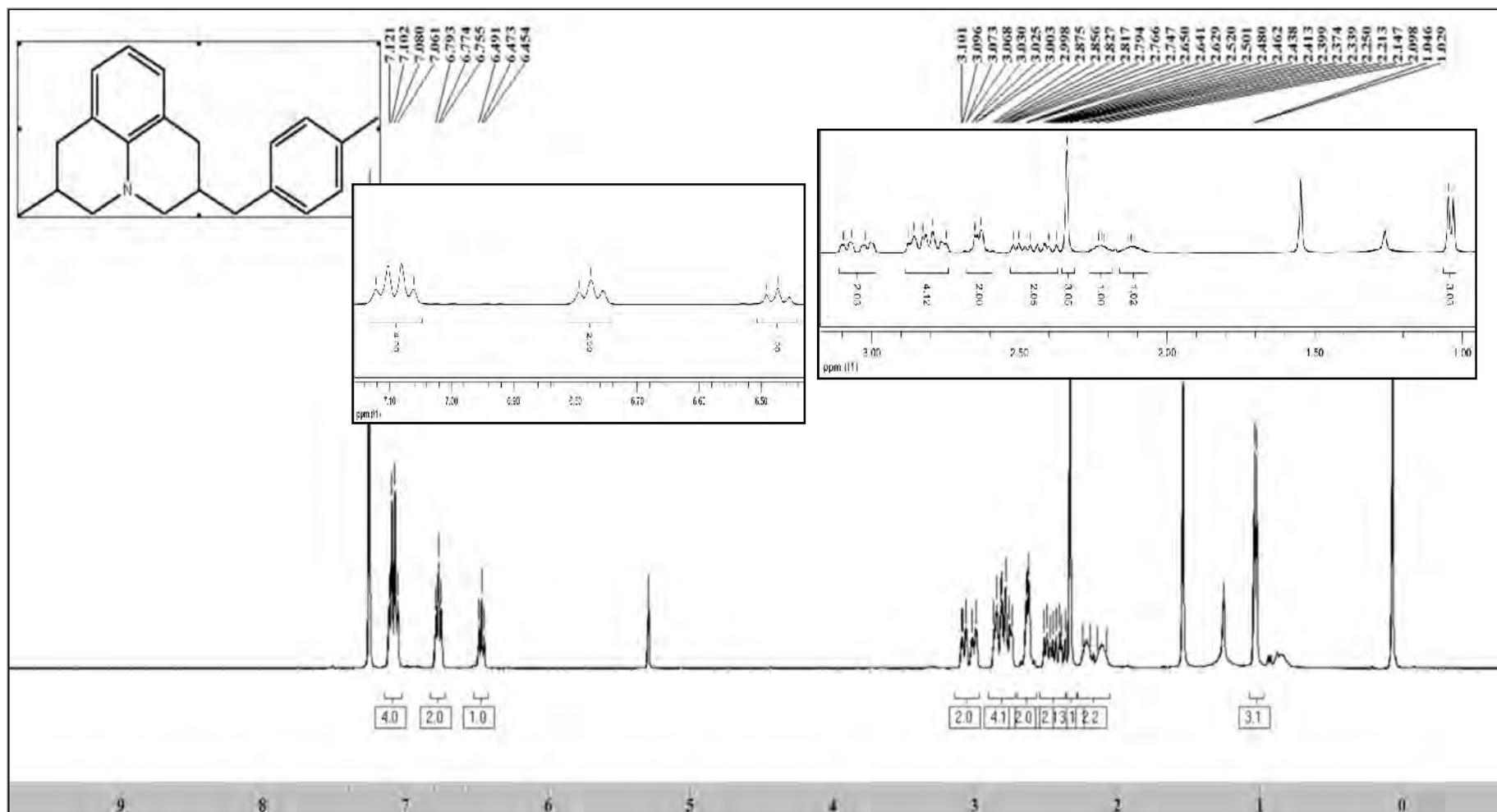


Figure A27: Spectre RMN ^1H du composé **5j** : 2-méthyl-6-(4-méthylbénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (400 MHz, CDCl_3)

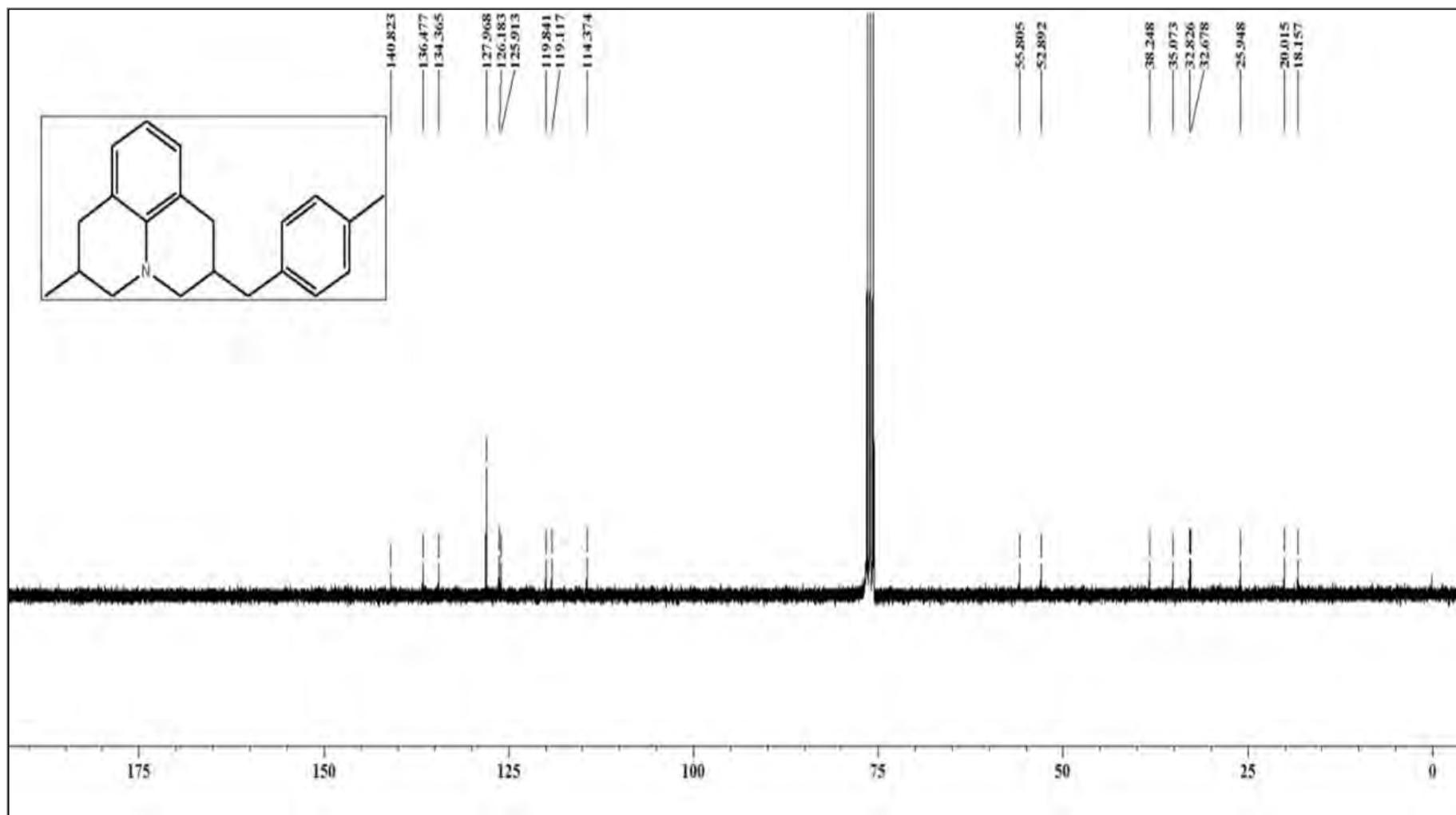


Figure A28: Spectre RMN ^{13}C du composé **5j** : 2-méthyl-6-(4-méthylbénzyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (100 MHz, CDCl_3)

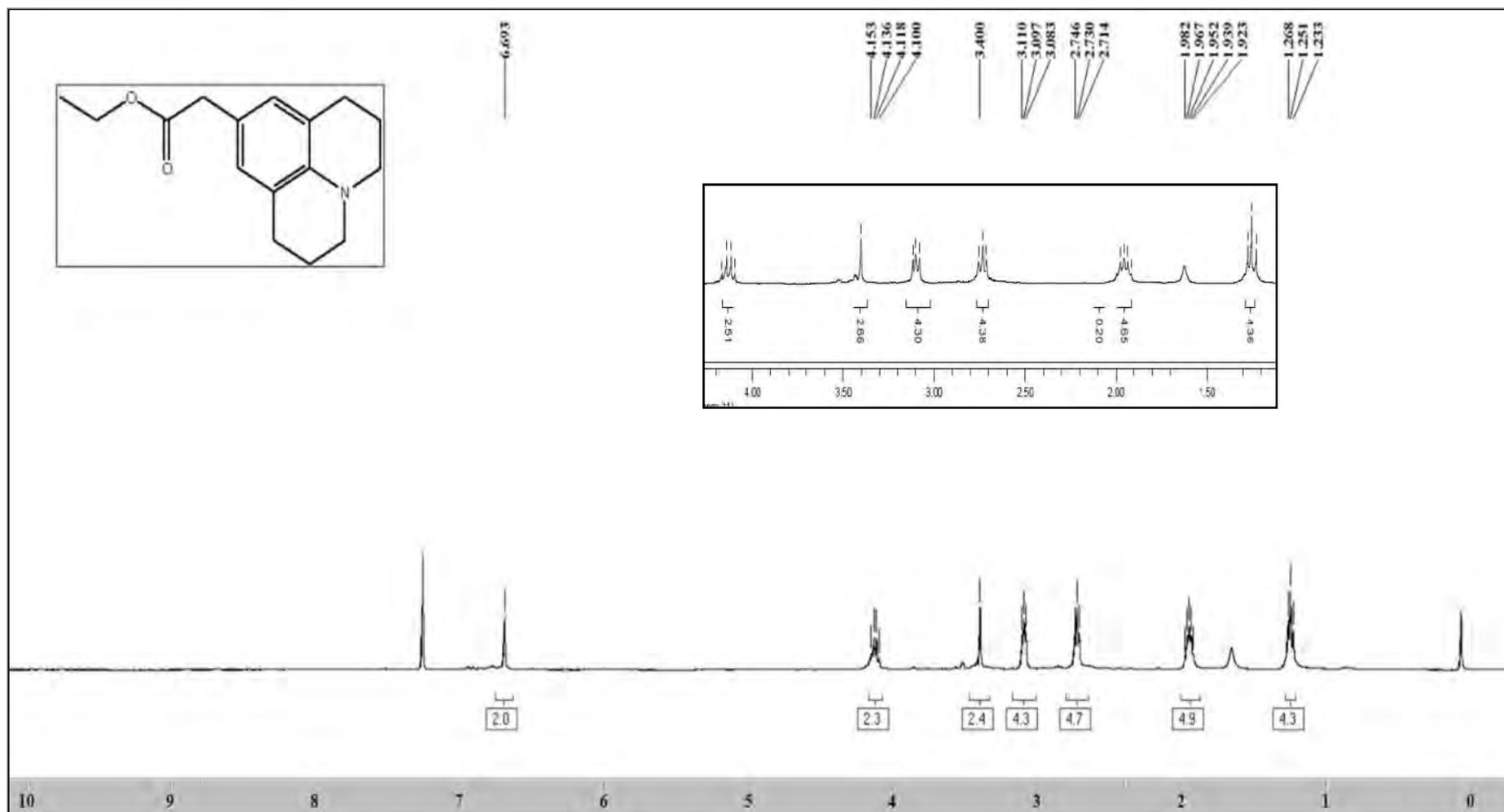


Figure A29: Spectre RMN ^1H du composé **6a** : éthyl 2-(2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléin-9-yl)acétate (300 MHz, CDCl_3)

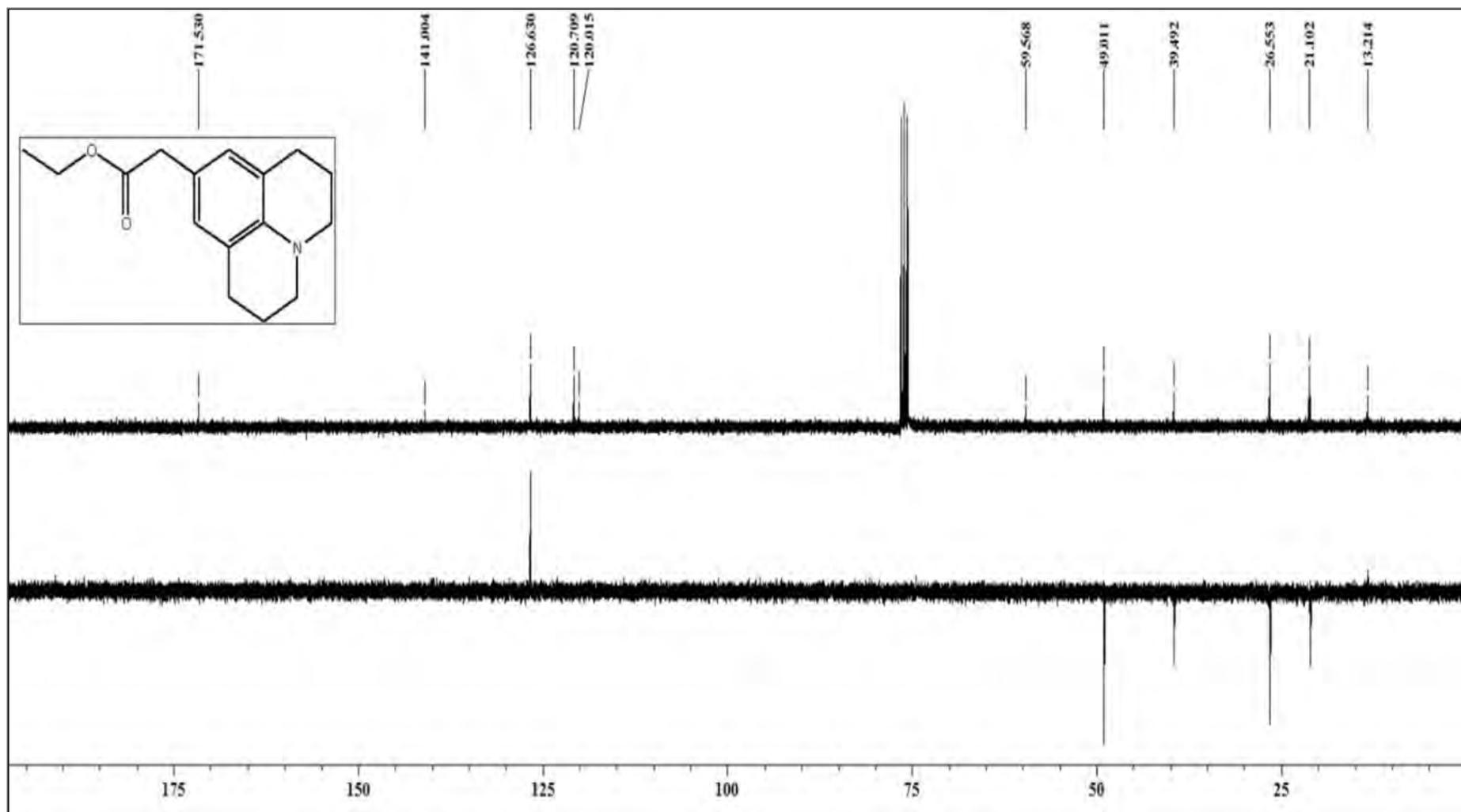


Figure A30: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **6a** : éthyl 2-(2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléin-9-yl)acétate (75 MHz, CDCl_3)

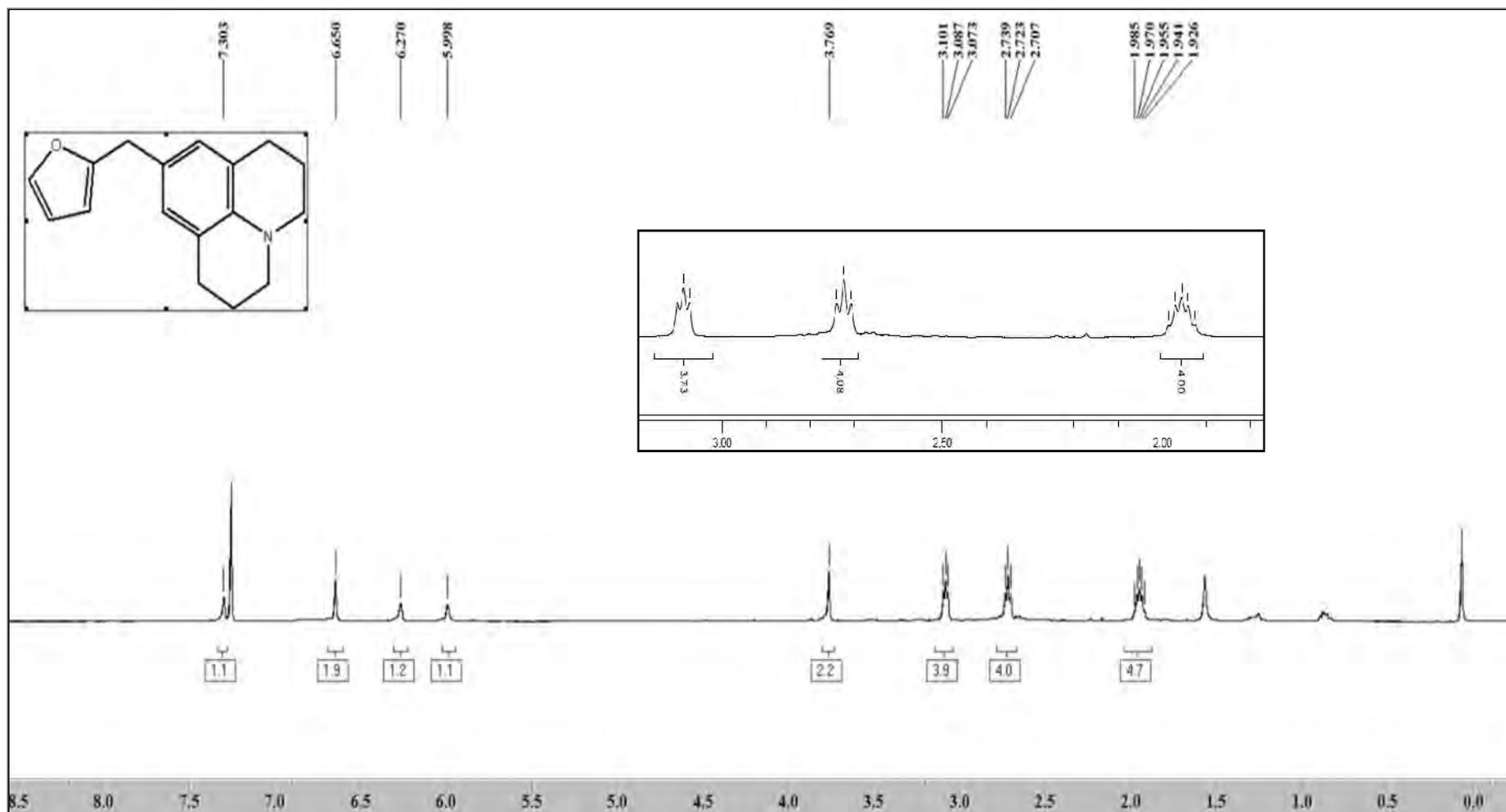


Figure A31: Spectre RMN ¹H du composé **6b** : 9-(furan-2-ylméthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (300 MHz, CDCl₃)

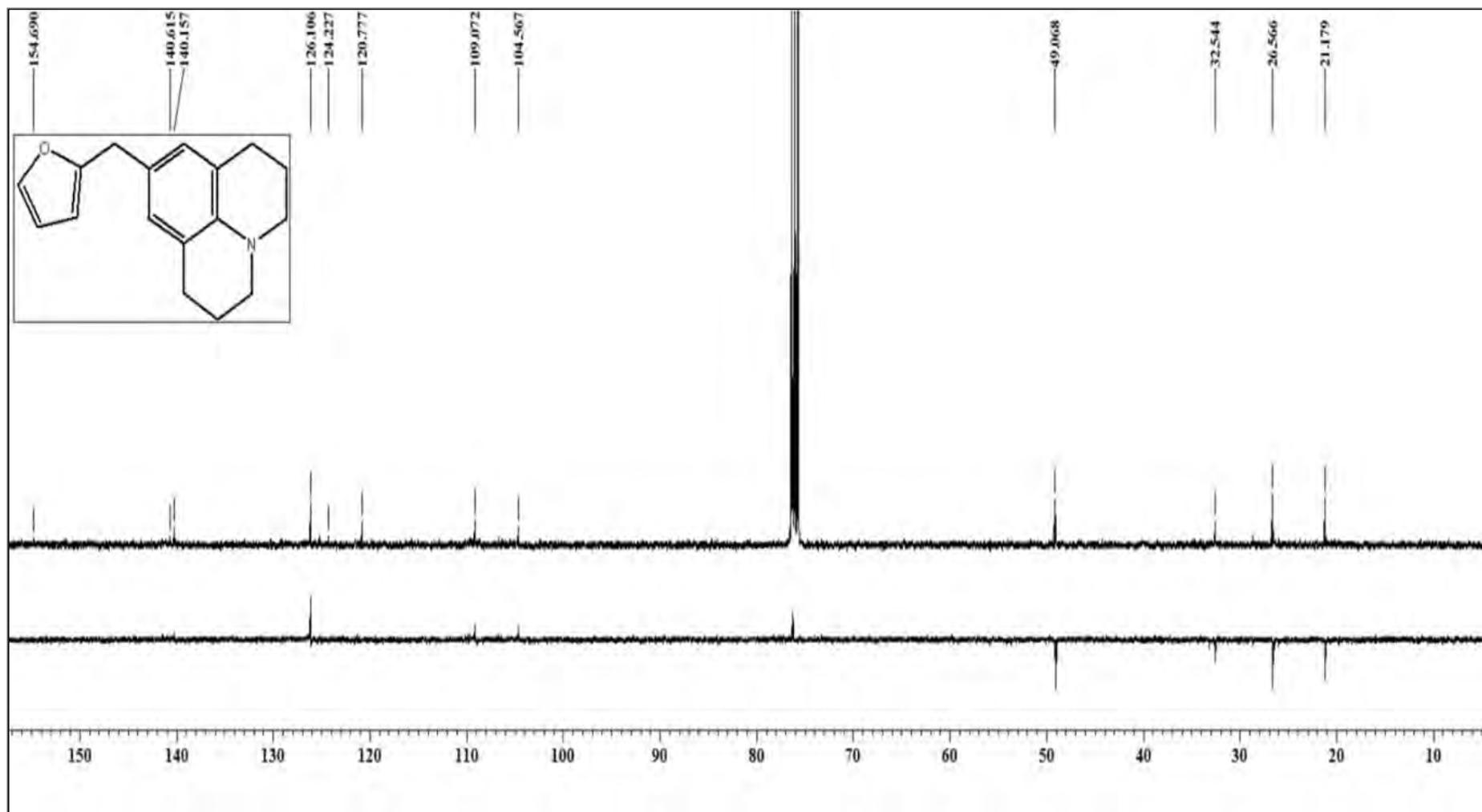


Figure A32: Spectre RMN ^{13}C et DEPT 135 du composé **6b** : 9-(furan-2-ylméthyl)-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine (75 MHz, CDCl_3)

PUBLICATION

Iridium-Catalyzed Sustainable Access to Functionalized Julolidines through Hydrogen Autotransfer

Amira Labed,^[b] Fan Jiang,^[a] Ilhem Labed,^[a] Alexis Lator,^[a] Marius Peters,^[a] Mathieu Achard,^{*,[a]} Ahmed Kabouche,^[b] Zahia Kabouche,^[b] Gangavaram V. M. Sharma,^[c] and Christian Bruneau^[a]

The straightforward and ecofriendly preparation of functionalized julolidines starting from tetrahydroquinoline, diols, and aldehydes, for which water is produced as the only side product was investigated. To achieve this task, several well-defined ruthenium and iridium complexes including three new complexes were prepared from the corresponding phosphine-sulfonates, phosphine-carboxylates, and phosphine-phosphonates. The first transformation involved in situ generation of enaminoiminium intermediates, which allowed the formation of the julolidines through formal N,C(sp²)-cyclization of tetrahydroquinoline and the propane-1,3-diols. The influence of the chelate acidity points out that [Cp*Ir^{III}]-based catalysts (Cp* = C₅Me₅) featuring phosphine-carboxylate and phosphine-sulfonate ligands were suitable for the cyclization, whereas the acidic phosphinophosphonate-containing complex favored the formation of reduced N-alkylated tetrahydroquinoline. We found that substitution of the propane-1,3-diols was crucial for the generation of enaminoiminium ions, which accounts for the efficiency and selectivity of the reaction. Applying another hydrogen autotransfer process, the prepared julolidines were easily functionalized at the C2 position.

Redox-neutral processes involving hydrogen transfers known as "borrowing hydrogen", "hydrogen autotransfer", and "hydrogen shuttling" represent ecofriendly approaches for the development of benign and atom-efficient protocols that allow the formation of carbon-heteroatom and carbon-carbon bonds.^[1] In these reactions, the cascade transformation involves the activation of the alcohols or amines through dehydrogenation

followed by condensation then reduction of the resulting unsaturated intermediates with the in situ generated metal hydride species. Since the seminal results of Shvo and Laine on the dealkylation/alkylation of tertiary amines involving iminium intermediates^[2] in the presence of Ru₃(CO)₁₂ followed by the works of Griggs^[3] and Watanabe^[4], who independently developed ruthenium complexes to achieve N-alkylation with alcohols, recent examples adopting these strategies have been documented to allow more selective and milder reaction conditions,^[5] water-soluble or reusable/immobilized catalysts,^[6] and asymmetric approaches.^[7] Recently, α - and β -alkylation of cyclic amines broadened the scope of this transformation.^[8] By suppressing the final hydrogenation step, acceptorless dehydrogenative condensation represents another elegant sustainable approach for the preparation of pyrroles, pyridines, and, more recently, quinolines through dual or multicomponent cascades.^[9–13]

Owing to their strong electron-releasing and fluorescent properties, julolidine derivatives have found broad applications as photosensitizers in material sciences, including in organic light-emitting diodes and solar cells (Figure 1).^[14] Surprisingly, traditional approaches to julolidines usually involve the reaction of anilines or tetrahydroquinolines with 1,3-dihalogenated

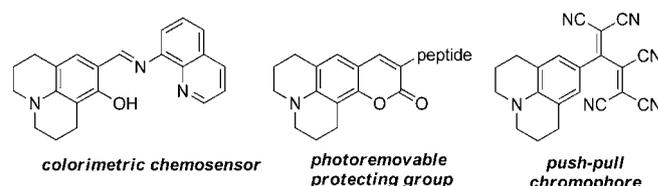


Figure 1. Some examples and applications of julolidines.

propanes such as harmful 3-chloro-1-bromopropane followed by functionalization of the C9 atom through bromination with *N*-bromosuccinimide (NBS) or Vilsmeier-Haack formylation to allow the introduction of the electron acceptor.^[14,15]

In 1985, Watanabe and co-workers pioneered the preparation of quinoline through dehydrogenative condensation from 1,3-propanediol and aniline in the presence of a ruthenium trichloride/tributylphosphine catalytic system along with a stoichiometric amount of nitrobenzene acting as a hydrogen acceptor.^[16] Since then, several reports have dealt with N,C(sp²)-cyclization through either acceptor-mediated dehydrogenative coupling or, more recently, acceptorless dehydrogenative coupling in the presence of a base.^[10,16] However, a catalytic system allowing the reduction of the final unsaturated inter-

[a] F. Jiang, I. Labed, A. Lator, M. Peters, Dr. M. Achard, Dr. C. Bruneau
UMR6226 CNRS, Institut des Sciences Chimiques de Rennes
Université de Rennes 1
OMC: Organometallics: Materials and Catalysis
Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex (France)
Fax: (+33)223236939
E-mail: mathieu.achard@univ-rennes1.fr

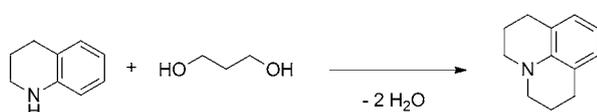
[b] A. Labed, Dr. A. Kabouche, Prof. Z. Kabouche
University of Constantine 1
Department of Chemistry
Laboratory of Therapeutic Substances Obtention (LOST)
Chaabet Ersas Campus, 25000 Constantine (Algeria)
Fax: (+213)31811100

[c] Dr. G. V. M. Sharma
Organic and Biomolecular Chemistry Division
CSIR-Indian Institute of Chemical Technology
Tarnaka, Hyderabad-500 607 (India)

Supporting Information for this article is available on the WWW under
<http://dx.doi.org/10.1002/cctc.201500051>.

mediates through hydrogen autotransfer is so far unknown. The development of such a transformation is highly desirable and could lead to ecofriendly, halogenated reagent-free syntheses of functionalized julolidines with the generation of water as the only side product; this could provide new insight into immobilization, matrix incorporation, and cell-permeation enhancement (Scheme 1).

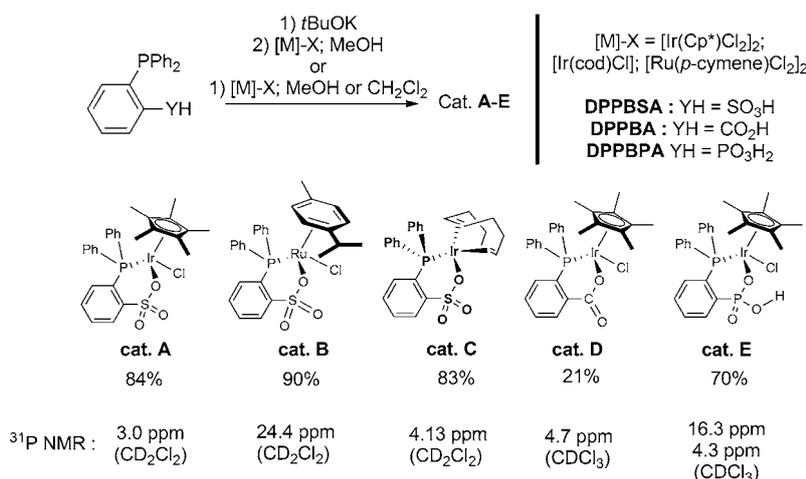
Herein, we report the development of a straightforward method for the preparation of julolidines by cyclization of 1,3-propanediols with tetrahydroquinoline involving borrowing-hy-



Scheme 1. Direct access to julolidines from tetrahydroquinoline and propane-1,3-diol.

drogen processes. Particularly, the preparations of various ruthenium and iridium complexes featuring phosphine-sulfonate/carboxylate/phosphonate chelates allow the influence of the acidic moiety on the chelating ligands towards the competitive side dehydration/reduction to be tackled. The diversity-oriented synthesis of functionalized julolidines is achieved through selective β -alkylation involving borrowing-hydrogen processes on the resulting challenging substrates.

With this idea in mind, we first focused our attention on the preparation of various ruthenium and iridium complexes containing an acidic chelating ligand to further evaluate the impact of the carboxylate, sulfonate, and phosphonate moieties toward the targeted cyclization. The diversity-oriented synthesis of functionalized julolidines is achieved through selective β -alkylation involving borrowing-hydrogen processes on the resulting challenging substrates. With this idea in mind, we first focused our attention on the preparation of various ruthenium and iridium complexes containing an acidic chelating ligand to further evaluate the impact of the carboxylate, sulfonate, and phosphonate moieties toward the targeted cyclization. The phosphinosulfonate-containing either Cp*-iridium(III) (Cp* = C₅Me₅) cat. **A** or arene ruthenium(II) cat. **B** complexes were prepared from deprotonated diphenylphosphinobenzenesulfonic acid (DPPBSA) and the [Cp*IrCl₂]₂ and [Ru(*p*-cymene)Cl₂]₂ metal precursors, respectively (Scheme 2).^[17] New square-planar iridium(I) complex cat. **C** was similarly synthesized starting from [Ir(cod)Cl]₂ (cod = 1,5-cyclooctadiene) in 83% yield; it was characterized by NMR spectroscopy and its structure was confirmed by X-ray crystallography (Figure 2).^[18,19] We next investigated the use of the less acidic diphenylphosphinobenzoic acid (DPPBA). By using methodology similar to that used for the preparation of cat. **A**, the reaction led to the formation of the expected, but surprisingly sensitive, complex cat. **D** characterized by a resonance at $\delta = 4.7$ ppm in its ³¹P NMR spectrum along with two distinct undesired species. Therefore, slight modification to the reaction conditions by performing the reaction with DPPBA gave,



Scheme 2. Preparation of the iridium and ruthenium complexes.

after crystallization with solvent-diffusion techniques (CH₂Cl₂/*n*-hexane), expected complex cat. **D** along with 2(H₃O⁺; Cl⁻); 1 H₂O molecules with a signal at $\delta = 9.5$ ppm in the ³¹P NMR spectrum (Figure 2).^[20] Further neutralization by careful treatment with water finally afforded cat. **D** in 21% yield (Scheme 2). Recently, Rieger and co-workers reported the synthesis of phosphinophosphonic prochelates from diethyl phosphonates for the preparation of various palladium(II) complexes.^[21] Following this methodology, we thus decided to prepare corresponding new Ir^{III} complex cat. **E**. Treatment of this phosphonic acid with 1 equivalent of potassium *tert*-butoxide followed by the addition of [Cp*IrCl₂]₂ gave two complexes. Analysis by ³¹P NMR spectroscopy confirmed the formation of one major species with resonances at $\delta = 16.3$ and 4.3 ppm corresponding to the phosphonate and phosphine groups, respectively, which after purification gave expected iridium(III) cat. **E** in 70% yield (Scheme 2).^[22,23]

Having prepared the well-defined complexes, we next investigated the target transformation to access to the corresponding julolidines (Table 1). Thus, tetrahydroquinoline (**1a**) was first treated with 1,3-propanediol (**2a**) for 20 h at 130 °C by using toluene as the solvent without any base or acid additive. [Ir^{III}(Cp*)]-based catalyst **A** was found to be active in this novel N,C(sp²)-dialkylation of **1a** with **2a** to give **3a**. However, a modest yield of 43% was obtained during our initial attempts (Table 1, entry 1). Analysis of the reaction mixture highlighted the side formation of *N*-propyltetrahydroquinoline (**4a**); a 61:39 ratio of **3a**/**4a** was reached.^[16,24] Modification of the temperature and concentration had only a limited impact on this ratio. Gratifyingly, increasing the amine **1a**/diol **2a** ratio from 1:1.2 to 2:1 minimized the formation of *N*-alkylated product **4a** and afforded julolidine **3a** in 72% yield with a **3a**/**4a** ratio of 87:13 (Table 1, entry 2). As expected, the corresponding in situ generated complex obtained by treatment of [Ir(Cp*)Cl₂]₂ with DPPBSA afforded a similar conversion, ratio, and yield (Table 1, compare entries 7 and 2). Lowering the concentration of **2a** resulted in a higher conversion, but the ratio of **3a**/**4a** decreased (Table 1, entries 7–9). We next investigated the influence of the chelate toward selectivity and yield. Com-

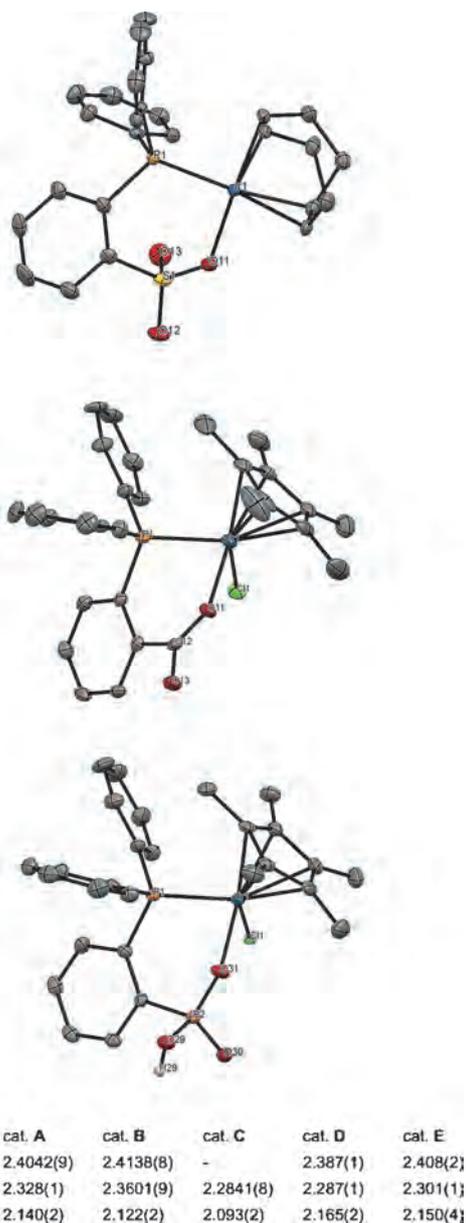


Figure 2. X-ray structures of new complexes cat. C (top), cat. D (middle), and cat. E (bottom), and comparison of the relevant bond lengths. Hydrogen atoms and solvents are omitted for clarity.

plex **D** featuring the softer phosphinocarboxylate chelate diminished the side reductive dehydration process to afford a similar conversion but an improved 92:08 ratio of **3a/4a** and **3a** was obtained in 77% yield (Table 1, entry 3). In contrast, Ir^{III} complex **E** even with a 2:1 ratio of **1a/2a**, which favored the formation of expected julolidine with **A** and **D**, enhanced the formation of *N*-propyltetrahydroquinoline with complete conversion with a 60:40 ratio of **3a/4a**, which demonstrates the influence of the second acidic dissociation constant (P-OH) on this complex toward the side dehydration/reduction reaction (Table 1, entry 4 vs. entries 2 and 3).

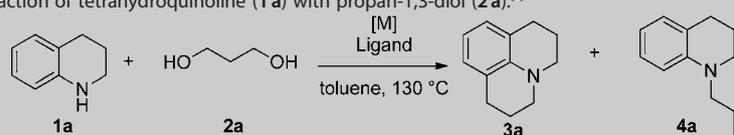
The use of arene ruthenium(II) complex **B** afforded a ratio of products similar to that provided by **A** but with a modest 53% conversion (Table 1, entry 5). Low conversion was also ob-

served in the presence of iridium(I) precatalyst **C**, but an equimolar ratio of **3a/4a** was obtained (Table 1, entry 6). Optimization of the promising result obtained with **D** led us to use DPPBA as a prolignand for further investigations. A similar result and a similar conversion were obtained by mixing DPPBA with [Ir(Cp*)Cl₂]₂ (Table 1, entry 10 vs. 3); therefore, in situ generation of the active species was next used for convenience. Increasing the reaction time to 36 h led to complete conversion and 91% yield (Table 1, entry 11). The tedious separation of remaining **1a** with formed **3a** along with trace amounts of **4a** by column chromatography over silica gel led to isolation of pure **3a** in 80% yield (Table 1, entry 11). Notably, the reactions were also performed on gram scale, and similar ratios and yields were observed.^[25]

With our best reaction conditions in hand, we next investigated the scope of the transformation with substituted 1,3-propanediols (Table 2). The reaction of 2-methylpropane-1,3-diol (**2b**) with [Ir(Cp*)Cl₂]₂ in the presence of DPPBA cleanly afforded expected julolidine **3b** in 78% yield with 5% yield of *N*-isobutyltetrahydroquinoline. Butane-1,3-diol (**2c**) was a more challenging substrate. In this case, competitive formation of the iminium and ketiminium ions resulting from condensation of the in situ generated aldehyde and ketone, respectively, led to julolidines **3c** and **3d** in yields of 5 and 23%, respectively. However, dehydration processes became the major pathway, and undesired *N*-alkylation products were obtained in 40% yield. The favored formation of **3d**+**4d** relative to that of **3c**+**4c** revealed the selective formation of the iminium ion.

Rationalization of the formation of **3** and **4** was next undertaken (Figure 3). In the presence of the catalytic species, activation of the propane-1,3-diol substrate through dehydrogenation followed by condensation in the presence of amine **1a** gives iminium intermediate **I**. Deprotonation affords key enamino alcohol intermediate **II**. According to path I and depending on the acidity of the ligand held by iridium, intermediate **II** can undergo protonation in the presence of an acidic catalytic species to form α,β -unsaturated exocyclic iminium ion **IV** after loss of a molecule of water. Then, reduction with the generated metal hydride species followed by protonation gives side product **4a**. On the other hand, in the presence of the required extra amount of amine **1a** and with the less acidic softer species arising from cat. **A** and cat. **D** following path II, key intermediate **II** after dehydrogenation and condensation could afford enaminoiminium ion **V** as a formal Povarov key intermediate.^[26–28] Therefore, electrocyclization followed by protonation and the release of amine **1a** might lead to α,β -unsaturated endocyclic iminium ion **VI**. Finally, reduction/protonation affords expected julolidine **3a**. This pathway tends to explain the competitive formation of **3c** and **3d** during the reaction with **2c**. However, we cannot totally exclude the formation of **3a** from sequential alkylations through hydrogen autotransfer (path III). The formation of **4a** could also arise from prior dehydration/isomerization processes of starting diol **1a** to afford propanal, which might also account for the formation of **4a**.^[29] To distinguish between the postulated pathways, we decided to perform the reaction with 2,2-dimethylpropane-1,3-diol, which cannot lead to key enamino

Table 1. Reaction of tetrahydroquinoline (**1a**) with propan-1,3-diol (**2a**).^[a]



Entry	Catalyst (mol%)	Ligand (mol%)	t [h]	Ratio 1a/2a	[2a] [M]	Ratio 3a/4a	Conv. [%] ^[b]	Yield of 3a [%] ^[c]
1	A (2.5)	–	20	1:1.2	1.3	61:39	87	43
2	A (2)	–	20	2:1	1.3	87:13	84	72
3	D (2)	–	20	2:1	1.3	92:08	85	77
4	E (2)	–	20	2:1	1.3	60:40	99	52
5	B (2.5)	–	20	2:1	1.3	85:15	53	25
6	C (2)	–	20	2:1	1.3	50:50	25	15
7	[Cp*IrCl ₂] ₂ (1)	DPPBSA (2)	20	2:1	1.3	85:15	82	67
8	[Cp*IrCl ₂] ₂ (1)	DPPBSA (2)	20	2:1	0.8	85:15	95	80
9	[Cp*IrCl ₂] ₂ (1)	DPPBSA (2)	20	2:1	0.4	75:25	99	70
10	[Cp*IrCl ₂] ₂ (1)	DPPBA (2)	20	2:1	1.3	91:9	82	71
11	[Cp*IrCl ₂] ₂ (1)	DPPBA (2)	36	2:1	1.3	95:5	99	91 (80)

[a] All reactions were performed in dry and degassed toluene under an inert atmosphere of argon. [b] Conversion was calculated based on GC analysis of the limiting substrate. [c] Yield of **3a** was determined by GC analysis by using dodecane as an internal standard, and the number in parentheses is the yield of the isolated product after purification by column chromatography on SiO₂.

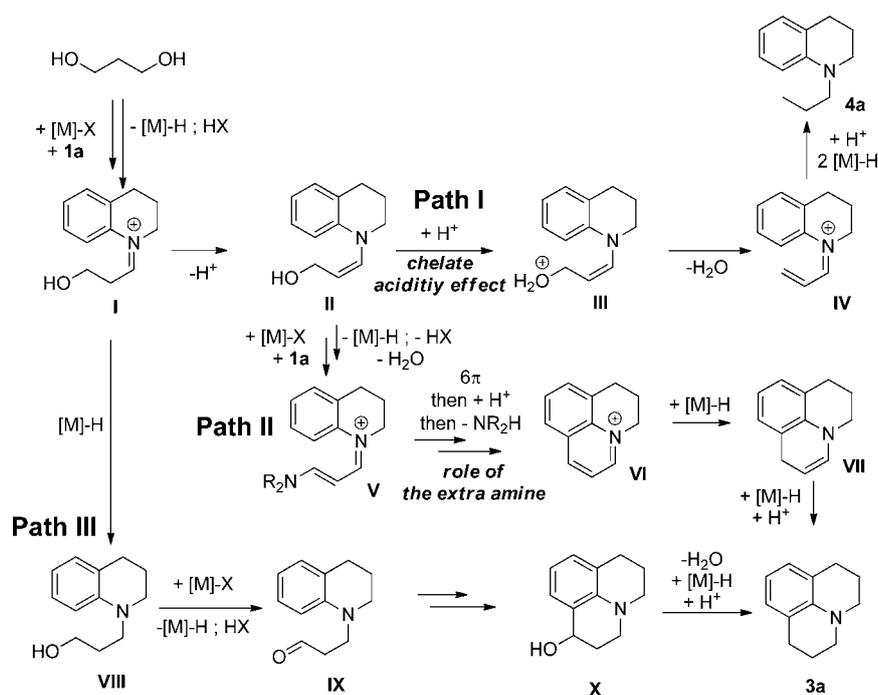
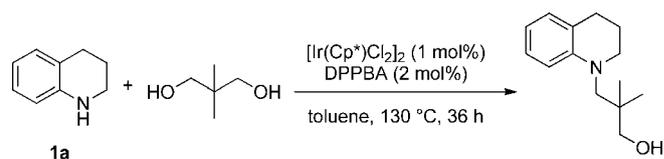


Figure 3. Proposed intermediates accounting for the formation of **3a** and **4a**.

alcohol of type **II**. In this case, the corresponding uncyclized amino alcohol product was predominantly formed, whereas 2,2-dimethyljulolidine was only detected by GC–MS analysis, that is, it was formed in < 1% (Scheme 3). This result tends to suggest the requirement of enaminoiminium intermediate **V** to ensure cyclization and might confirm that path II mainly accounts for the formation of julolidine **3**. This overall transformation complements traditional Povarov cyclizations that require specific dienophiles.^[27]



Scheme 3. Importance of α,β -unsaturated intermediates **II** to ensure julolidine formation.

At this first stage, considering the importance of the substitution patterns to ensure selective cyclization and the limited number of commercially available propane-1,3-diol derivatives, the diversity of julolidines arising from hydrogen autotransfer could appear quite limited. However, we considered that the prepared julolidines would be suitable candidates for post-functionalization through hydrogen autotransfer in the presence of electrophiles such as aldehydes to access β -alkylated julolidines. Noteworthy, the chromophoric properties of julolidines are inherent to their strong electron-donating properties. Therefore, the highly nucleophilic site at C9 adds another challenge to the target transformation (Figure 4).

To our delight, the use of phosphinocarboxylate DPPBA and phosphinosulfonate DPPBSA chelates allowed the formation of the expected C β -functionalized julolidines from various aldehydes acting as electrophiles (Table 3). Under conditions that we previously used for C β -alkylation,^[8b] for example, in the presence of formic acid to achieve final reduction, reaction of benzaldehyde with **3a** afforded **5a** in 67% yield. Similarly, *p*-methylbenzaldehyde reacted cleanly to give **5d** in 43% yield. *ortho*- and *para*-Bromobenzaldehyde gave halogenated julolidines **5b** and **5c** in yields of 65 and 64%, respectively; this opens new perspectives of transformations of julolidines through catalyzed cross-coupling reactions. Thiophene carboxaldehydes were compatible with the transforma-

Table 2. Yields of isolated julolidines **3 a–d**, and product distributions from propanediol derivatives **2**.

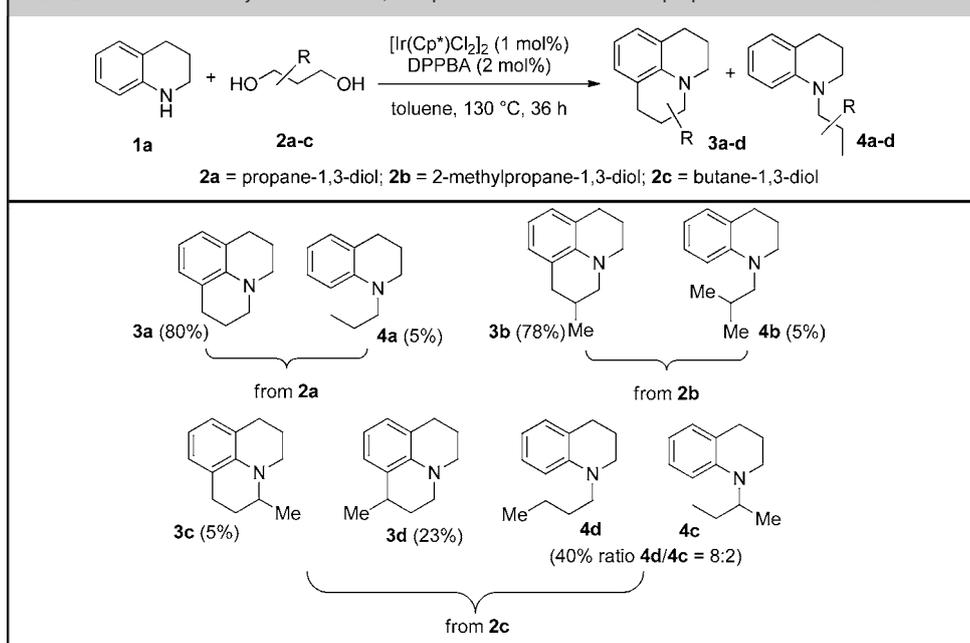


Table 3. Yields of isolated products from the β -alkylation of julolidines **3**.

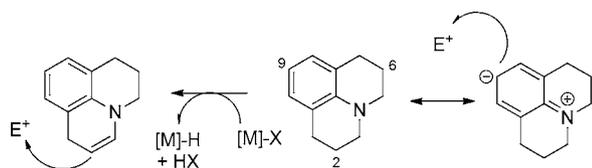
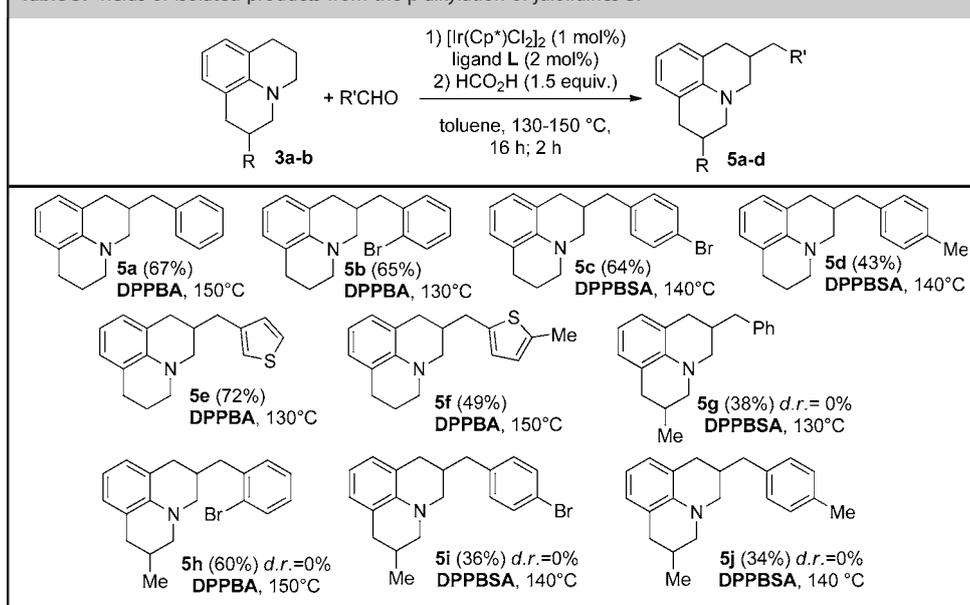
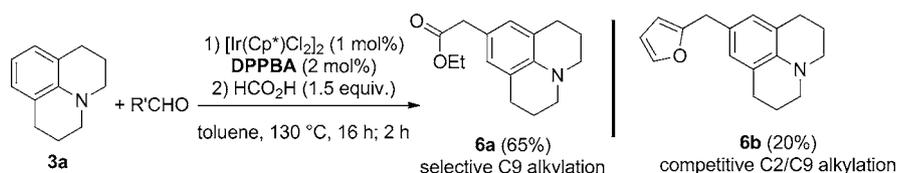


Figure 4. Competitive alkylation pathways.

tion, as they yielded products **5 e** and **5 f** in up to 72% yield. In each case, the use of methyl-substituted julolidine **3 b** led to the formation of two isomers without diastereoselectivity,

which afforded the disubstituted products in 34–60% yields. Notably, with the aldehydes employed above, no C9-alkylation products were detected during the transformation. However, during our attempts to react 2-furfural with julolidine **3 a**, a temperature-dependent mixture of products was observed. Analyses revealed the formation of C9-alkylated julolidine **6 b** in 20% yield (Scheme 4). The use of ethyl glyoxylate completely suppressed the β -alkylation and only **6 a** was formed during the reaction, which highlights that aldehydes featuring a coordinating oxygen atom in the α -position favor Friedel–Crafts-type products. Taken together, these results provide new insight into accessing julolidines through borrowing-hydrogen processes and the C9 position is kept intact for the introduction of an electron acceptor.

In conclusion we have demonstrated that the preparation of various julolidines can be easily achieved through hydrogen autotransfer involving consecutive N,C-dialkylation of tetrahydroquinoline and β -alkylation under green conditions with formation of water as the sole byproduct. Phosphinosulfonate and phosphinocarboxylate were found to be efficient ligands for these transformations, whereas more acidic phosphinophosphonate favored dehydration/reduction pathways. The efficiency of the same iridium catalysts in both synthesis and functionalization reactions suggests that a tandem protocol might be possible for the overall transformation. Modification of the optical properties during β -alkylation of the julolidines by suppressing the final reduction with formic acid would afford interesting results. Extension of this methodology to N-substituted anilines is currently underway.



Scheme 4. C9-Alkylation of julolidine **3a**.

Experimental Section

General Procedure for the preparation of the julolidines **3**

A 25 mL, flame-dried Schlenk tube was charged with 1,3-propanediol (**2**; 0.67 mmol, 1.0 equiv.), 1,2,3,4-tetrahydroquinoline (**1a**, 2.0 equiv.), toluene (0.5 mL), well-defined cat. **D** (2.5 mol%) or in situ $[\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)_2\text{Cl}_2]$ (1 mol%), and 2-(diphenylphosphino)benzoic acid (DPPBA, 2 mol%). The mixture was evacuated by vacuum–argon cycles (5×) and stirred at 130 °C (oil bath temperature) for 20–36 h. After cooling the mixture to room temperature, the crude material was suspended on silica and purified by column chromatography (Et_2O /petroleum ether) to isolate expected julolidine **3**.

Acknowledgements

The authors thank Dr. Thierry Roisnel and Dr. Vincent Dorcet for X-ray analyses. F.J. thanks the European Union (FP-7 integrated project Synflow, NMP-2009-3.2-1 no. 246461; <http://synflow.eu>) for a fellowship. Thanks are also due to CEFIPRA/IFCPAR (Indo French Centre for the Promotion of Advanced Research) (IFC/A/5105-4/2014/777) for support.

Keywords: borrowing hydrogen · chelates · cyclization · green chemistry · iridium

- [1] For reviews, see: a) K. I. Fujita, R. Yamaguchi, *Synlett* **2005**, 560; b) G. Guillena, D. J. Ramón, M. Yus, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2358; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2410; c) M. H. S. A. Hamid, P. A. Slatford, J. M. J. Williams, *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1555; d) G. W. Lamb, J. M. J. Williams, *Chim. Oggi* **2008**, *26*, 17; e) T. D. Dixon, M. K. Whittlesey, J. M. J. Williams, *Dalton Trans.* **2009**, 753; f) G. E. Dobereiner, R. H. Crabtree, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 681; g) G. Guillena, D. J. Ramón, M. Yus, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1611; h) R. Yamaguchi, K. I. Fujita, M. Zhu, *Heterocycles* **2010**, *81*, 1093; i) Y. Obora, Y. Ishii, *Synlett* **2011**, 30; j) S. Bähn, S. Imm, L. Neubert, M. Zhang, H. Neumann, M. Beller, *ChemCatChem* **2011**, *3*, 1853; k) J. Moran, M. J. Krische, *Pure Appl. Chem.* **2012**, *84*, 1729; l) C. Gunanathan, D. Milstein, *Science* **2013**, *341*, 249.
- [2] Y. Shvo, R. M. Laine, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 753.
- [3] a) R. Grigg, T. R. B. Mitchell, S. Sutthivaiyakit, N. Tongpenyai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 611; b) R. Grigg, T. R. B. Mitchell, S. Sutthivaiyakit, N. Tongpenyai, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 4107.
- [4] a) Y. Watanabe, Y. Tsuji, Y. Oshugi, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2667; b) Y. Watanabe, Y. Tsuji, H. Ige, Y. Ohsugi, T. Ohta, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3359.
- [5] For selected recent contributions concerning ruthenium, see: a) M. Haniti, S. A. Hamid, J. M. J. Williams, *Chem. Commun.* **2007**, 725; b) A. Tillack, D. Hollmann, D. Michalik, M. Beller, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 4745; c) M. H. S. A. Hamid, C. L. Allen, G. W. Lamb, A. C. Maxwell, H. C. Maytum, A. J. A. Watson, J. M. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1766; d) A. J. Blacker, M. M. Farah, M. I. Hall, S. P. Marsden, O. Saidi, J. M. J. Williams, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2039; e) J. He, J. W. Kim, K. Yamaguchi, N. Mizuno, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9888; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 10072; f) G. W. Lamb, A. J. A. Watson, K. E. Jolley, A. C. Maxwell, J. M. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 3374; g) F. Shi, M. K. Tse, S. Zhou, M. M. Pohl, J. Radnik, S. Hübner, K. Jähnisch, A. Brückner, M. Beller, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1775; h) S. Bähn, S. Imm, K. Mevius, L. Neubert, A. Tillack, J. M. J. Williams, M. Beller, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 3590; i) S. Agrawal, M. Lenormand, B. Martin-Matute, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1456; j) D. Weickmann, B. Plietker, *ChemCatChem* **2013**, *5*, 2170; k) D. Weickmann, W. Frey, B. Plietker, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2741. For selected recent contributions concerning iridium, see: l) R. Yamaguchi, S. Kawagoe, C. Asai, K. I. Fujita, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 181; m) B. Blank, S. Michlik, R. Kempe, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 3790; n) D. Gnanamgari, E. L. Sauer, N. D. Schley, C. Butler, C. D. Incarvito, R. H. Crabtree, *Organometallics* **2009**, *28*, 321; o) O. Saidi, A. J. Blacker, M. M. Farah, S. P. Marsden, J. M. J. Williams, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 1541; p) N. Andrushko, V. Andrushko, P. Roose, K. Moonen, A. Börner, *ChemCatChem* **2010**, *2*, 640; q) M. A. Berliner, S. P. A. Dubant, T. Makowski, K. Ng, B. Sitter, C. Waggar, Y. Zhang, *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 1052; r) J. Q. Li, P. G. Andersson, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 6131; s) S. Ogawa, Y. Obora, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 2491. For a recent contribution concerning rhenium, see: t) H. Jin, J. Xie, C. Pan, X. Zhu, Y. Cheng, C. Zhu, *ACS Catal.* **2013**, *3*, 2195. For a recent contribution concerning osmium, see: u) M. L. Buil, M. A. Esteruelas, J. Herrero, S. Izquierdo, I. M. Pastor, M. Yus, *ACS Catal.* **2013**, *3*, 2072. For a recent contribution concerning metal-free catalysis, see: v) X. Han, J. Wu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4637; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 4735.
- [6] a) G. W. Lamb, F. A. Al Badran, J. M. J. Williams, *Chem. Eng. Res. Des.* **2010**, *88*, 1533; b) K. Yamaguchi, J. He, T. Oishi, N. Mizuno, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 7199; c) R. Kawahara, K. I. Fujita, R. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15108; d) H. Ohta, Y. Yuyama, Y. Uozumi, Y. M. A. Yamada, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3892; e) R. Kawahara, K. I. Fujita, R. Yamaguchi, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 1161; f) S. Pei Shan, T. T. Dang, A. M. Seayad, B. Ramalingam, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 808.
- [7] a) A. Eka Putra, Y. Oe, T. Ohta, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 6146; b) Y. Zhang, C. S. Lim, D. S. B. Sim, H. J. Pan, Y. Zhao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 1399; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 1423.
- [8] a) I. Jovel, S. Prateptongkum, R. Jackstell, N. Vogl, C. Weckbecker, M. Beller, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 1956; b) K. Yuan, F. Jiang, Z. Sahli, M. Achard, T. Roisnel, C. Bruneau, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 8876; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 9006; c) Z. Sahli, B. Sundararaju, M. Achard, C. Bruneau, *Green Chem.* **2013**, *15*, 775.
- [9] Pyrroles: a) S. Michlik, R. Kempe, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 140; b) M. Zhang, H. Neumann, M. Beller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 597; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 625; c) K. Iida, T. Miura, J. Ando, S. Saito, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1436; d) D. Srimani, Y. Ben-David, D. Milstein, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4012; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 4104; e) M. Zhang, X. Fang, H. Neumann, M. Beller, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 11384; f) S. Chandrasekhar, V. Patro, L. N. Chavan, R. Chegondi, R. Grée, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 5932.
- [10] Pyridines and quinolines: a) D. Srimani, Y. Ben-David, D. Milstein, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 6632; b) S. Michlik, R. Kempe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6326; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 6450; c) S. Ruch, T. Irrgang, R. Kempe, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 13279.
- [11] Imidazoles: a) C. Crotti, E. Farnetti, S. Licen, P. Barbieri, G. Pitacco, *J. Mol. Catal. A* **2014**, *382*, 64; b) T. Hille, T. Irrgang, R. Kempe, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 5569.
- [12] Amide from amine: J. R. Khusnutdinova, Y. Ben-David, D. Milstein, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2998.
- [13] Indoles: M. Peña-López, H. Neumann, M. Beller, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1818.
- [14] a) R. W. Castellino, G. Hallas, *J. Chem. Soc. B* **1971**, 793; b) H. Wang, Z. Lu, S. J. Lord, K. A. Willets, J. A. Bertke, S. D. Bunge, W. E. Moerner, R. J. Twieg, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 103; c) A. Srivastava, P. K. Singh, M. Kumbhakar, T. Mukherjee, S. Chattopadhyay, H. Pal, S. Nath, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9257; d) L. Zhu, C. Zhong, Z. Liu, C. Yang, J. Qin, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 6666; e) J. Shao, S. Ji, X. Li, J. Zhao, F. Zhou, H. Guo, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 6100; f) N. Hebbbar, C. Fiol-Petit, Y. Ramondenc, G. Plé,

- N. Plé, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 2287; g) A. M. Piloto, G. Hungerford, S. P. G. Costa, M. S. T. Goncalves, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7715; h) G. Wu, F. Kong, J. Li, W. Chen, X. Fang, C. Zhang, Q. Chen, X. Zhang, S. Dai, *Dyes Pigm.* **2013**, *99*, 653; i) S. Kamino, M. Murakami, M. Tanioka, Y. Shirasaki, K. Watanabe, J. Horigome, Y. Ooyama, S. Enomoto, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 258; j) T. N. Murakami, N. Koumura, M. Kimura, S. Mori, *Langmuir* **2014**, *30*, 2274; k) G. J. Park, Y. J. Na, H. Y. Jo, S. A. Lee, C. Kim, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 6618. l) S. Lucas, M. Negri, R. Heim, C. Zimmer, R. W. Hartmann, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2307.
- [15] S. Liu, W. H. Wang, Y. L. Dang, Y. Fu, R. Sang, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4235.
- [16] Y. Tsuji, H. Nishimura, K. T. Huh, Y. Watanabe, *J. Organomet. Chem.* **1985**, *286*, c44.
- [17] B. Sundararaju, Z. Tang, M. Achard, G. V. M. Sharma, C. Bruneau, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 3141.
- [18] N. G. Leonard, G. V. Parker, P. G. Williard, W. H. Bernskoetter, *J. Inorg. Organomet. Polym.* **2014**, *24*, 157.
- [19] CCDC 1044096 contains the supplementary crystallographic data for cat. C.
- [20] CCDC 1044095 contains the supplementary crystallographic data for cat. D.
- [21] C. M. Reisinger, R. J. Nowack, D. Volkmer, B. Rieger, *Dalton Trans.* **2007**, 272.
- [22] CCDC 1044356 contains the supplementary crystallographic data for cat. E.
- [23] CCDC 1049270 contains the supplementary crystallographic data for the protonated cat. E demonstrating the proton responsive ability of such complex.
- [24] For the formation of reduced N-alkylated products from aniline and propane-1,3-diol, see: S. D. Lacroix, A. Pennycook, S. Liu, T. T. Eisenhart, A. Marr, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, *2*, 288.
- [25] It should be noted that on large scale reactions, the use of 1.3 equiv. of **1a** is sufficient to ensure similar yields.
- [26] For, reviews, see: a) G. Masson, C. Lalli, M. Benohoud, G. Dagousset, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 902; b) X. X. Jiang, R. Wang, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 5515.
- [27] For julolidines with electron-rich dienophile or styrene by the Povarov reaction, see: a) J. Legros, B. Crousse, M. Ourévitch, D. Bonnet-Delpon, *Synthesis* **2006**, 1899; b) J. Baptista Simões, A. de Fátima, A. A. Sabino, F. T. de Aquino, D. L. da Silva, L. C. A. Barbosa, S. A. Fernandes, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 5069.
- [28] For a selected recent application, see: a) C. Min, A. Sanchawala, D. Seidel, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2756, and references cited therein.
- [29] Z. Sahli, B. Sundararaju, M. Achard, C. Bruneau, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3964.

Received: January 20, 2015

Published online on March 10, 2015

Résumé

Dans la première partie de ce travail, notre étude a été consacrée à l'investigation phytochimique et biologique des gousses de l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. (Fabacées). Les séparations et purifications des fractions d'acétate d'éthyle et de la fraction butanolique a permis l'isolement de six composés (quatre flavonoïdes dont deux sont triglycosylés, une saponine et un cyclitol). L'élucidation structurale de ces composés a été déterminée grâce aux méthodes spectroscopiques UV-Visible, la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) mono et bidimensionnelle (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC et TOCSY) et par la comparaison avec les données de la littérature.

La fraction chloroformique possède une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, tandis que la fraction acétate d'éthyle a manifesté une activité antioxydante modérée par les méthodes du DPPH, ABTS, CUPRAC et métal chélate. Par ailleurs, l'évaluation de l'activité immunomodulatrice de la fraction butanolique par la méthode de Biozzi a démontré que cette dernière a amélioré l'activité phagocytaire en stimulant le système réticulo-endothélial.

Dans la deuxième partie, nous décrivons la synthèse de 12 nouveaux dérivés julolidiniques *via* le processus de transfert d'hydrogène. La première transformation a permis la formation de julolidines par cyclisation NC (sp^2) de la tétrahydroquinoléine et les propane-1,3-diols. En appliquant un autre processus d'autotransfert d'hydrogène, les julolidines synthétisées ont été facilement fonctionnalisées en position C_2 dans des conditions vertes avec la formation de l'eau comme le seul sous produit. L'activation de la position C_9 a été ainsi réalisée et trois nouveaux catalyseurs d'iridium ont été synthétisés. Les composés synthétisés ont été analysés en utilisant les techniques de RMN (^1H , ^{13}C et DEPT), la spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) et les rayons X.

Mot clés: *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire., activité antioxydante, antibactérienne, immunomodulatrice, transfert d'hydrogène, iridium, julolidine, β -alkylation.

ملخص

خصص الجزء الأول من هذا العمل للدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية للنبتة *Astragalus armatus*

(Fabacées)

سمحت الدراسة الفيتوكيميائية لكسر خلات الإيثيل والكسر البوتانولي بعزل ستة مركبات (أربع فلافونويدات إثنين منها ثلاثية السكر، صابونين و سيكليطول). تم تحديد بنية المركبات باستخدام الطرق المطيافية الحديثة، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي أحادي و ثنائي الأبعاد RMN (^1H , ^{13}C , COSY, HMBC و HMQC و TOCSY) و بالمقارنة مع المعطيات البيولوجية.

دراسة الفعالية البيولوجية للكسور المتحصل عليها كشفت أن الكسر الكلوروفورمي يملك فعالية جيدة مضادة للبكتيريا ضد السلالات *E.coli*, *S.aureus*, et *P.aeruginosa* في حين أظهر كسر خلات الإيثيل فعالية معتدلة مضادة للأكسدة باستعمال طرق DPPH, CUPRAC et métal chélate ABTS, أما تقييم النشاط المناعي للكسر البوتانولي فكشف أن هذا الأخير حسن l'activité phagocytaire من خلال تحفيز الشبكة الباطنية و ذلك حسب الجرعة المحقونة.

في الجزء الثاني من هذا العمل، قمنا باصطناع 12 مشتق جولوليديني بطريقة نقل الهيدروجين. التحول الأول أدى لتشكيل الجولوليدين عن طريق cyclisation (sp^2)-NC لكل من *tétrahydroquinoléine* و *propan-1,3-diol* من خلال تطبيق طريقة أخرى لنقل الهيدروجين، تم بسهولة تفعيل الجولوليديينات في الموقع C_2 مع تشكيل الماء كمركب ثانوي. و كذلك قمنا بتفعيل الموقع C_6 بالإضافة إلى إصطناع ثلاثة عوامل محفزة ايريديوم جديدة. تم تحديد بنية المركبات عن طريق استخدام تقنيات الرنين المغناطيسي النووي (^{13}C , ^1H و DEPT)، مطيافية الكتلة عالية الدقة (HRMS) والأشعة السينية.

الكلمات المفتاحية: *Astragalus armatus ssp. numidicus* (Coss. et Dur.) Maire، مضادة للأكسدة، مضادة

للبيكتيريا، الفعالية المناعية، نقل الهيدروجين، ايريديوم، β -alkylation.

Abstract

In the first part of this work, our study was devoted to the phytochemical and biological investigations of the pods of *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. (Fabaceae). Separation and purification of the ethyl acetate and the *n*-butanol fractions led to the isolation of six compounds (four flavonoids including two triglycosyles, a saponin and a cyclitol). The structural elucidation of these compounds was determined using modern spectroscopic methods including ultraviolet spectroscopy UV, nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) mono and bidimensional (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC and TOCSY) and with comparison with literature data.

The chloroform fraction exhibited the best antibacterial activity against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*, while the ethyl acetate fraction showed the highest antioxidant activity by the use of DPPH, ABTS, CUPRAC and metal chelate methods. Furthermore, the evaluation of the immunomodulatory activity of the *n*-butanol fraction with Biozzi method showed that the butanolic fraction improved the phagocytic activity by stimulating the reticulo-endothelial system.

In the second part, the synthesis of 12 new derivatives julolidines was carried out by hydrogen transfer process. The first transformation allowed the formation of julolidines by NC (sp^2)-cyclisation of tetrahydroquinoline and propan-1,3-diols. Applying another hydrogen autotransfer process, the prepared julolidines were easily functionalized at the C_2 position in green conditions with the formation of water as the only by-product. The activation of C_9 was also achieved. The preparation of three new iridium catalysts was performed.

The structures of the synthesized compounds were mainly established by the use of NMR techniques (^1H , ^{13}C and DEPT), by high resolution mass spectrometry (HRMS) and by X-rays.

Key words: *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire., antioxidant, antibacterial, immunomodulatory, hydrogen transfer, iridium, julolidine, β -alkylation.

Résumé

Dans la première partie de ce travail, notre étude a été consacrée à l'investigation phytochimique et biologique des gousses de l'espèce *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. (Fabacées). Les séparations et purifications des fractions d'acétate d'éthyle et de la fraction butanolique a permis l'isolement de six composés (quatre flavonoïdes dont deux sont triglycosylés, une saponine et un cyclitol). L'élucidation structurale de ces composés a été déterminée grâce aux méthodes spectroscopiques UV-Visible, la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) mono et bidimensionnelle (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC et TOCSY) et par la comparaison avec les données de la littérature.

La fraction chloroformique possède une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, tandis que la fraction acétate d'éthyle a manifesté une activité antioxydante modérée par les méthodes du DPPH, ABTS, CUPRAC et métal chélate. Par ailleurs, l'évaluation de l'activité immunomodulatrice de la fraction butanolique par la méthode de Biozzi a démontré que cette dernière a amélioré l'activité phagocytaire en stimulant le système réticulo-endothélial.

Dans la deuxième partie, nous décrivons la synthèse de 12 nouveaux dérivés julolidiniques *via* le processus de transfert d'hydrogène. La première transformation a permis la formation de julolidines par cyclisation NC (sp^2) de la tétrahydroquinoléine et les propane-1,3-diols. En appliquant un autre processus d'autotransfert d'hydrogène, les julolidines synthétisées ont été facilement fonctionnalisées en position C_2 dans des conditions vertes avec la formation de l'eau comme le seul sous produit. L'activation de la position C_9 a été ainsi réalisée et trois nouveaux catalyseurs d'iridium ont été synthétisés.

Les composés synthétisés ont été analysés en utilisant les techniques de RMN (^1H , ^{13}C et DEPT), la spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) et les rayons X.

Mot clés: *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire., activité antioxydante, antibactérienne, immunomodulatrice, transfert d'hydrogène, iridium, julolidine, β -alkylation.

Abstract

In the first part of this work, our study was devoted to the phytochemical and biological investigations of the pods of *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire. (Fabaceae). Separation and purification of the ethyl acetate and the *n*-butanol fractions led to the isolation of six compounds (four flavonoids including two triglycosyles, a saponin and a cyclitol). The structural elucidation of these compounds was determined using modern spectroscopic methods including ultraviolet spectroscopy UV, nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) mono and bidimensional (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC and TOCSY) and with comparison with literature data.

The chloroform fraction exhibited the best antibacterial activity against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*, while the ethyl acetate fraction showed the highest antioxidant activity by the use of DPPH, ABTS, CUPRAC and metal chelate methods. Furthermore, the evaluation of the immunomodulatory activity of the *n*-butanol fraction with Biozzi method showed that the butanolic fraction improved the phagocytic activity by stimulating the reticulo-endothelial system.

In the second part, the synthesis of 12 new derivatives julolidines was carried out by hydrogen transfer process. The first transformation allowed the formation of julolidines by NC (sp^2)-cyclisation of tetrahydroquinoline and propan-1,3-diols. Applying another hydrogen autotransfer process, the prepared julolidines were easily functionalized at the C_2 position in green conditions with the formation of water as the only by-product. The activation of C_9 was also achieved. The preparation of three new iridium catalysts was performed.

The structures of the synthesized compounds were mainly established by the use of NMR techniques (^1H , ^{13}C and DEPT), by high resolution mass spectrometry (HRMS) and by X-rays.

Key words: *Astragalus armatus* ssp. *numidicus* (Coss. et Dur.) Maire., antioxidant, antibacterial, immunomodulatory, hydrogen transfer, iridium, julolidine, β -alkylation.