



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE «ABBES LAGHROUR» KHENCHELA  
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE

Département des Sciences de la Matière

N° de série :.....

## Mémoire de fin d'études

*Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)*

**Filière: Chimie**

**Spécialité : Chimie Analytique et Environnement**

**Intitulé :**

# Composition chimique de la plante *Astragalus depressus*

*Réalisé par :*

**BOUTABBA Asma**

**ARROUS Khaoula**

*Dirigé par :Dr. MAAMRIA Leyla*

*Membres du jury :*

*Président : LACHEKHEB Messaouda*

**MAA.**

*Univ. Abbès Laghrou Khenchela*

*Examineur: GOLEA Lynda*

**MCA.**

*Univ. Abbès Laghrou Khenchela*

*Promotion : 2020/2021*

## **Remerciement**

*Avant tout nous remercions le bon dieu de tout puissant qui nous a donné, la patience et courage pour accomplir ce mémoire.*

*Nous remercions nos parents respectifs pour leurs soutiens durant notre parcours de formation.*

*Nous tenons tous d'abord à remercier notre encadreur **Mme MAAMRIA Leyla** pour son orientation, précieux conseils, et son encouragement. Votre compétence, votre encadrement ont toujours suscité nos profonds respects.*

*Merci à **Mme LACHEKHEB Messaouda** et **Mme GOLÉA Lynda** d'avoir accepté d'évaluer notre travail au sein du jury de soutenance, vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger travail.*

*Un grand merci particulier au **Dr HEZIL Nawel** chef du département pour son encouragement.*

*Sans oublier tous nos enseignants de la spécialité Chimie Analytique et Environnement pour leur présence, leur aide et leurs conseils au cours de notre formation.*

*A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*J'ai le grand plaisir de dédier ce travail :*

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral  
et Source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié  
pour ma réussite, que dieu te garde, à **Mon père***

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de  
mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **maman** que j'adore.*

*À ma chère sœur **AMINA** pour sa gentillesse et son amour.*

*À mes chers frères : **HAITHEM** et **YOUCEF** pour leur amour.*

*À **ΚΗΛΟΥΛΑ**, chère amie avant d'être binôme. Merci  
énormément pour ton soutien plus que précieux.*

*À ma famille pour leurs encouragements.*

***ASMA***

*À la plus belle créature que dieu a créée sur terre, ma très chère  
maman tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au  
long de mon parcours, tu n'as cessé de me soutenir et de  
m'encourager durant toutes les années de mes études, merci*

*Mama.*

*À mon très cher père, tu as toujours à mes côtés pour me  
soutenir et m'encourager, merci **papa** pour ton amour.*

*À ma belle-sœur **BOUTHIENA** et mon cher frère **AKREM***

*Puisse dieu vous donne santé, bonheur et surtout réussite*

*À mes **grands-parents** pour leurs encouragements et leur  
soutien moral.*

*À ma belle amie **ASMA**, nous passons tout le temps ensemble,  
merci pour mes encouragements, je te souhaite un avenir radieux  
plein de réussite.*

**KHAOULA**

## *Abréviations*

<b>AcOEt</b>	Acétate d'éthyle
<b>CC</b>	Chromatographie sur colonne ouverte
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>CD<sub>3</sub>OD</b>	Méthanol deutéré
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroforme
<b>COSY H-H</b>	Spectroscopie de corrélation
<b><i>d</i></b>	Doublet
<b><i>dd</i></b>	Doublet de doublets
<b><i>ddd</i></b>	Doublet de doublets de doublets
<b>DEPT</b>	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
<b>EP</b>	Éther de pétrole
<b>ESI</b>	Spectrométrie de masse par Electrospray
<b><i>g</i></b>	Gramme
<b><i>gal</i></b>	Galactose
<b><i>Glc</i></b>	Glucose
<b><i>gluc</i></b>	Acide glucuronique
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Connectivity
<b>Hz</b>	Hertz
<b>J</b>	Constante de couplage (RMN)
<b><i>m</i></b>	Multiplet
<b>Me</b>	Méthyle
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b><i>m/z</i></b>	Masse/charge d'un ion

<b><i>n</i>-BuOH</b>	<i>n</i> -butanol
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>ppm</b>	Partie par million
<b><i>q</i></b>	Quadruplet
<b>R</b>	Radical
<b>rha</b>	Rhamnose
<b>RMN<sup>1</sup>H</b>	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
<b>RMN<sup>13</sup>C</b>	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
<b>ROESY</b>	Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy
<b>RP-18</b>	Silice greffée en C-18
<b><i>s</i></b>	Singulet
<b>SiO<sub>2</sub></b>	Gel de silice normale
<b>SM</b>	Spectrométrie de Masse
<b><i>t</i></b>	Triplet
<b><i>td</i></b>	Triplet de doublets
<b>TMS</b>	Tétraméthylsilane
<b>uma</b>	Unité de masse atomique
<b>VLC</b>	Chromatographie Liquide sous Vide
<b>xyl</b>	Xylose
<b>1D</b>	Monodimensionnel
<b>2D</b>	Bidimensionnel
<b>δ</b>	Déplacement chimique

# SOMMAIRE

<i>Introduction</i> .....	1
---------------------------	---

## *Chapitre I : Rappels Bibliographiques*

I.1 Les Fabacées:.....	4
I.1.1 Classification .....	4
I.1.1.1 Les Mimosoideaes.....	4
I.1.1.2 Les Caesalpinioideaes .....	4
I.1.1.3 Les Papilionacées ou Faboidées.....	4
I.1.2 Description botanique .....	5
I.2 Le genre <i>Astragalus</i> .....	6
I.2.1 Généralités.....	6
I.2.2 Description botanique du genre <i>Astragalus</i> .....	6
I.2.3 L'espèce <i>Astragalus depressus</i> .....	7
I.2.3.1 Rappel botanique.....	7
I.2.4 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre <i>Astragalus</i> .....	8
I.2.4.1 Utilisation en médecine traditionnelle.....	8
I.2.4.2 Activités biologiques.....	9
I.2.5 Toxicité du genre <i>Astragalus</i> .....	9
I.2.5.1 Astragales toxiques .....	9
I.2.5.2 Astragales non toxiques.....	9
I.3 Etudes phytochimiques antérieures sur le genre <i>Astragalus</i> .....	9
I.4 Etude des Saponosides.....	24
I.4.1 Définition.....	24
I.4.2 Composition des saponines .....	24
I.4.3 Classification des saponines .....	25
I.4.3.1 Les saponosides stéroïdiques .....	25

I.4.3.2 Les Saponosides triterpéniques .....	26
I.4.3.3 La partie osidique .....	27
I.4.4 Biosynthèse des saponosides .....	27
I.4.5 Propriétés des saponines.....	29
I.4.5.1 Les propriétés physico-chimiques.....	29
I.4.5.2 Les propriétés biologiques.....	29

## *Chapitre II: Etude phytochimique*

II.1 Résultats et discussions .....	32
II.1.1 Extraction .....	32
II.1.2 Séparation et purification .....	33
II.1.3 Caractérisation de produit obtenu .....	34
II.1.3.1 Elucidation structurale du composé A .....	35

## *Chapitre III: Partie expérimentale*

III.1 Matériels et appareillage .....	53
III.1.1 Récolte de la plante <i>A. Depressus</i> .....	53
III.1.2 Chimie extractive .....	53
III.1.2.1 Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	53
III.1.2.2 Chromatographie liquide sous vide (VLC) .....	53
III.1.2.3 Chromatographie sur colonne ouverte (CC) .....	54
III.1.3 Chimie structurale .....	54
III.1.3.1 Spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) .....	54
III.1.3.2 Spectrométrie de masse .....	54
III.2 Etude de l'espèce <i>Astragalus depressus</i> .....	55
III.2.1 Extraction.....	55
III.2.2 Fractionnement et purification de l'extrait acétate d'éthyle .....	55
III.2.2.1 Etude de la fraction F5.....	56
III.3 Constantes physiques et données spectrales du composé A.....	57

<i>Conclusion</i> .....	60
<i>Bibliographie</i> .....	62
<i>Résumé</i> .....	69

## *Introduction*

## *Introduction*

A travers les siècles, les plantes ont toujours occupé une place prépondérante dans la vie de l'homme. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes pour se nourrir, se défendre, se vêtir ou se soigner. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et a évolué avec l'histoire et le développement de l'humanité.

L'industrie pharmaceutique moderne s'inspire encore largement de métabolites secondaires d'origine végétale. Les plantes possèdent en effet des principes actifs très puissants qui se trouvent dans toutes leurs parties (racines, écorce, feuilles, sommités fleuries, fruits, résine...). Le meilleur exemple est le taxol isolé de *Taxusbrevifolia* (If du Canada). Ce médicament important de la chimiothérapie anticancéreuse constitue un des grands succès de la recherche pharmaceutique moderne.

En Algérie, le secteur des plantes alimentaires, médicinales et toxiques est depuis plusieurs années un centre d'intérêt aussi bien pour les chercheurs, les industriels ou les agriculteurs. Elle possède une des flores les plus diversifiées et les plus originales du bassin méditerranéen. Cette flore compte près de 3000 espèces de plantes, 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques [1].

La famille des légumineuses est une des plus importantes parmi les dicotylédones. C'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèce utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, cosmétiques, industrielles ou médicinales.

Ce travail de recherche porte sur l'investigation chimique d'une plante nommée *Astragalus depressus*, appartenant à la famille Fabaceae et au genre *Astragalus*. Ce genre est connu par la richesse en métabolites secondaires d'intérêt biologique comme les saponosides et flavonoïdes.

Notre travail sera divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre de ce travail a trait tout d'abord à l'étude bibliographique de la famille Fabacées, le genre *Astragalus* l'espèce *Astragalus depressus*. Elle se poursuit également par les travaux antérieurs chimiques relatifs à plusieurs espèces du genre *Astragalus*, et finalement l'étude des saponosides,

Le deuxième chapitre est consacré aux résultats phytochimiques obtenus à partir de l'étude chimique de l'espèce *Astragalus depressus*. Ce chapitre rapporte d'une manière détaillée l'extraction, l'isolement, la purification et l'élucidation structurale du composé isolé.

Enfin, le troisième et dernier chapitre constituant la partie expérimentale effectué sur l'extrait acétate d'éthyle. Il est présenté les différentes techniques chromatographiques et les méthodes d'analyse structurales mises en œuvre.

# *CHAPITRE I*

## *Rappels bibliographiques*

## I.1 Les Fabacées:

La famille des Fabaceae ou Leguminosae appartient à l'ordre des Fabales. Elle représente la troisième plus grande famille des plantes à fleurs après les Orchidaceae et Asteraceae avec 730 genres et plus de 19400 espèces. Les plantes fabacées donnent des fruits secs dans une gousse appelée légume qui se développe à partir d'un seul carpelle et se sépare, ou se divise, à maturité en deux moitiés (appelées valves), avec la graine attachée au bord d'une des valves [2].

Cette famille est composée de variétés horticoles, dont beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin). Elle est utilisée pour ses huiles (arachide, soja), ses fibres et bois comme combustible, ainsi que son utilisation en médecine (spartéine extraite du genêt à balais, réglisse) ou en chimie [3].

### I.1.1 Classification

En classification phylogénétique d'APG III (2009). La famille des *Fabaceae* ou *Leguminosae* a un sens plus large et comprend trois sous familles : Mimosoideae, Caesalpinioideae et Papilionaceae ou Faboideae.

#### I.1.1.1 Les Mimosoideae

La majorité des Mimosoideae sont des arbres et arbustes qui se trouvent dans les régions tropicales et subtropicales, elles possèdent des fleurs symétriques, petites et très nombreuses qui sont localisées en grappes serrées à nombreuses étamines saillantes en dehors des petits pétales[4]. Cette sous-famille regroupe 40 genres et 2500 espèces tel que *Parkia*, *Mimosa*, *Acacia*, *Albizia*[5].

#### I.1.1.2 Les Caesalpinioideae

Sont principalement des arbres ou des arbustes qui se retrouvent dans des régions tropicales et subtropicales. Elles possèdent des fleurs sous forme des papillons et à étamines unis [4]. Cette sous-famille comprend 150 genres et 2700 espèces comme *Cassia*, *Cercis* et *Caesalpinia* [5].

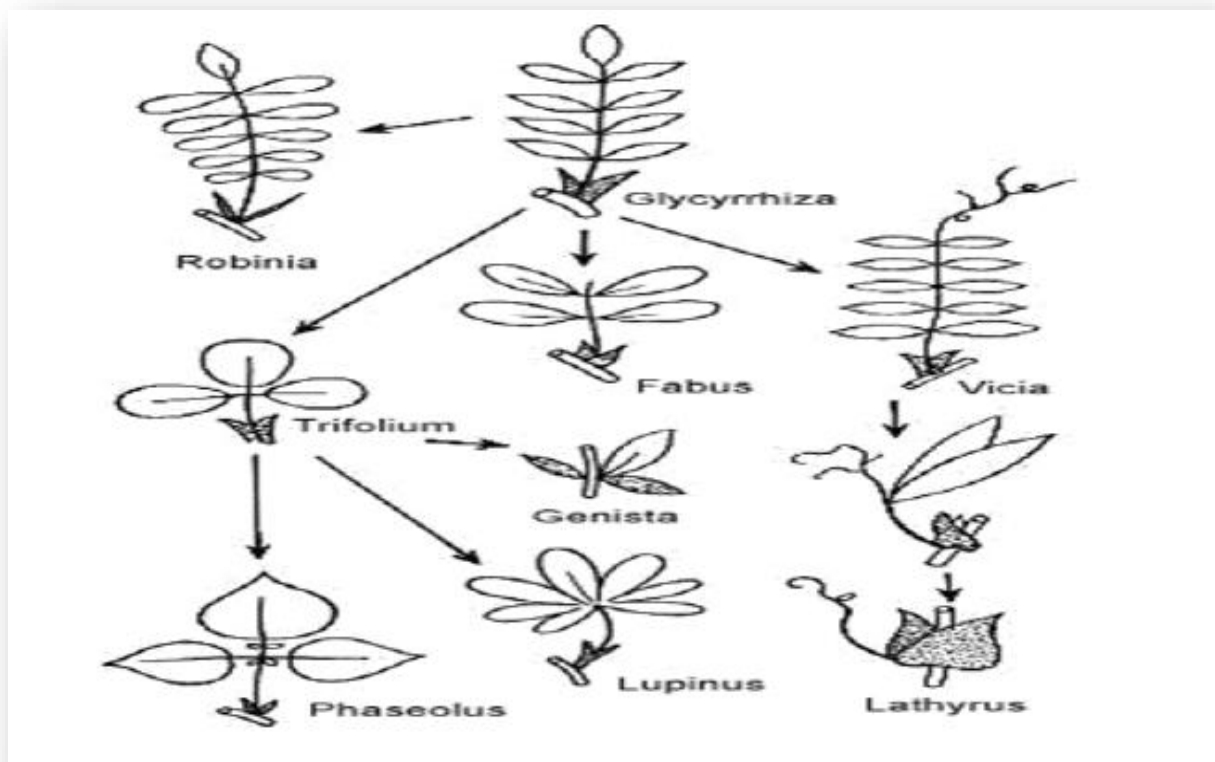
#### I.1.1.3 Les Papilionacées ou Faboïdées

Sont tempérées et tropicales et inclut les légumineuses à graines bien connus telles que des haricots et des pois. Leurs fleurs prennent la forme de papillon[4]. C'est la sous-famille

qui comprend 429 genres et 12615 espèces tel que *Sophora*, *Abrus*, *Arachis* principalement des herbes et des petits arbustes, cosmopolites, présentes dans les régions [5].

### I.1.2 Description botanique

Les plantes de cette famille sont herbacées, arbustes, arbres ou plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles. Elles possèdent un métabolisme azoté élevé et renferment des acides aminés non protéogéniques. Aussi, elles sont souvent constituées de nodules racinaires contenant des bactéries fixatrices d'azote, *Rhizobium*. Dans de nombreux cas, elles sont constituées d'alcaloïdes, parfois de composés cyanogénétiques. La longueur des poils est variable et les feuilles sont généralement alternes, composées pennées (ou bipennées) à composés palmées, trifoliolées ou unifoliolées (Figure I.1). Les folioles sont parfois transformées en vrilles. Ces plantes sont constituées de renflements moteurs à la base de la feuille et des folioles bien développées, produisant généralement des mouvements de veille et de sommeil. Les stipules sont présentes, minuscules à foliacées, et parfois transformées en épines[6].



**Figure I.1:Feuille composée des Fabacées. Evolutions et variations autour de la feuille imparipennée typique de la famille.**

Les Inflorescences sont presque toujours indéterminées, parfois réduites à une fleur solitaire, terminales ou axillaires. Également, les fleurs sont généralement hermaphrodites, actinomorphes à zygomorphes, à hypanthium court et généralement cupuliforme (Figure I.2).

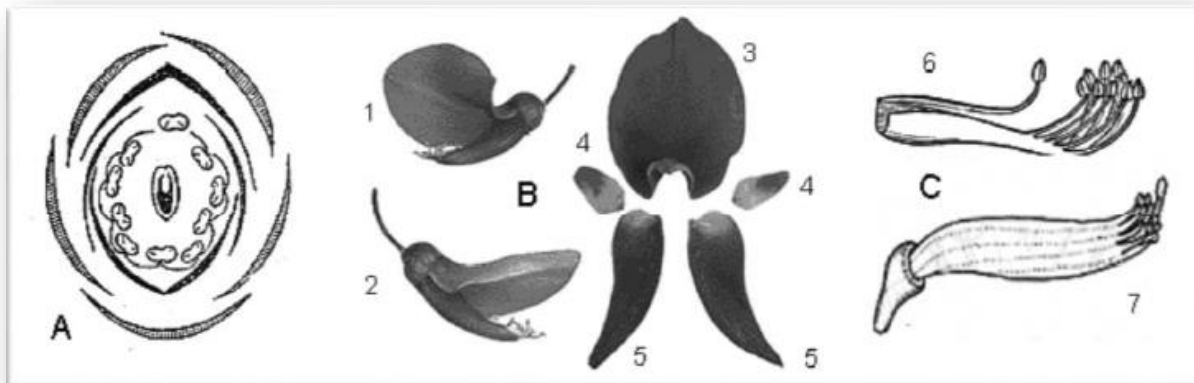


Figure I.2:Fleur des Fabacées.

## I.2 Le genre *Astragalus*

### I.2.1 Généralités

Le mot *Astragalus* dérive du mot astragale, d'origine grecque désignant l'os de la cheville ou plus exactement l'un des os de l'articulation tibiotarsienne. La dénomination d'astragale vient de la ressemblance du bruit des graines séchées de la plante avec celui de l'os, quand elles tombent sur une surface solide[7] .

Le genre *Astragalus* est le genre le plus important chez les plantes à fleurs [8] et donc également le plus important de la famille des Fabacées (les légumineuses) [9]. Il comporte environ 3270 espèces, essentiellement pérennes et largement répandues dans la région tempérée de le monde, il est réparti partout dans le monde mais majoritairement dans l'hémisphère Nord du globe terrestre [10].Une cinquantaine d'espèces se rencontre en Afrique du Nord dont une quinzaine au Sahara [11]. Il est bien documenté en tant qu'intéressant source de substances biologiquement actives telles que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les polysaccharides [12] .

### I.2.2 Description botanique du genre *Astragalus*

Les plantes de ce genre sont des herbes annuelles et pérennes ou de petits arbustes [13].

Elles se répartissent en trois séries nommées **I**, **II** et **III** se définissant comme suit :

**Série I**: elle se divise en deux classes **A** et **B**.

- **Classe A** : les plantes appartenant à cette classe sont caractérisées par de grandes fleurs jaunes et des gousses droites, épaisses, renflées qui dépassent un centimètre de diamètre comme l'espèce *Astragalus armatus* Lam.
- **Classe B** : ses plantes sont caractérisées par des fleurs de teinte variable et des gousses étroites, droites ou fortement arquées ne dépassant pas cinq millimètres de diamètre. On citera les espèces *Astragalus caprinus* L, *A. gombo* Coss&Dur, *A. gombiformis* Pomel, *A. akkensis* Coss et *A. pseudotrigonus* Batt&Trab.

**Série II** : les plantes de cette série sont caractérisées par une gousse arquée en demi-cercle et d'épaisseur régulière comme *Astragalus gyzensis* Del, *A. corrugatus* Bertol, *A. eremophilus* Boiss, *A. geniorum* Maire et *A. mareoticus* Del.

**Série III** : les plantes appartenant à cette série sont caractérisées par une gousse droite ou peu arquée, plus ou moins dilatée. On relève pour l'exemple *Astragalus sinaicus* Boiss, *A. cruciatus* Link, *A. vogelii* (Webb) Hetch et *A. tenuifolius* Desf [11].

### I.2.3 L'espèce *Astragalus depressus*

#### I.2.3.1 Rappel botanique

*Astragalus depressus* appartient au genre *Astragalus*., qui est le plus grand genre de la famille des légumineuses (Fabaceae). Cette espèce méditerranéenne broutée par le bétail est une plante herbacée vivace qui pousse dans les rochers des hautes montagnes d'Algérie [14].

*Astragalus depressus* est une plante vivace apparait seulement sur la face supérieure des folioles de 5-15 cm pubescente blanchâtre ,à tiges nulles ou très courte avec des feuilles imparipennées, à 9-11 paires de folioles obovales,soyeuses en dessous ;stipules libres, ovales acuminées ,Elle possède des fleurs blanchâtres avec la carène noirâtre,9-15 en têtes subglobuleuses, lâches, sur des pédoncules radicaux bien plus courtes que les feuilles, elle a des gousses de 15-25 mm sur 3, cylindriques, atténuées au sommet, à la fin glabre. Cette espèce méditerranéenne, broutée par les animaux à l'instar de bon nombre de plantes légumineuses [15].



**Figure I.3:** Espèce *Astragalus depressus*

Cette espèce est classée comme suit :

**Famille :** Fabaceae (Leguminosae)

**Sous-famille :** Faboideae

**Genre :** *Astragalus*

**Espèce :** *Astragalus depressus*

## **I.2.4 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Astragalus***

### **I.2.4.1 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 [16].

En R.D.C (ex Zaïre), les racines fraîches d'*Astragalus lusitanicus* Lam. sont utilisées en cataplasme dans les maladies du genou et du coude (enflures, arthroses et luxations) [16].

En Algérie, l'espèce *Astragalus gyzensis* Bunge est utilisée pour soulager les morsures des serpents [17].

Au Maroc, la décoction des feuilles et des racines d'*Astragalus tenuifolius* Desf. est utilisée contre la fatigue et la helminthiase [18].

*Astragalus membranaceus* 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 [19].

#### **I.2.4.2 Activités biologiques**

Les plantes du genre *Astragalus* sont connues pour leur richesse en polysaccharides, saponines et flavonoïdes, métabolites secondaires possédant diverses et intéressantes activités biologiques.

Des études biologiques ont confirmé que les triterpènes glycosylés à squelette cycloartane et oléananes isolés de certaines espèces de ce genre (*A. trojanus*), sont dotés d'activités immunostimulante, anti-protazoale, antivirale, cytotoxique, cardiotonique et adjuvante comme *A. oleifolius* DC et *A. trojanus* Stev. Ils favorisent aussi la cicatrisation des plaies. D'autres études ont révélé que les cycloartanes exercent d'autres activités biologiques : anti-inflammatoire, analgésique, diurétique, hypotensive et sédative [20].

#### **I.2.5 Toxicité du genre *Astragalus***

##### **I.2.5.1 Astragales toxiques**

Les espèces toxiques de ce genre sont classées selon la nature de la toxine dominante et le type d'intoxication qu'elles provoquent, et se divisent en trois catégories [21]:

- Les astragales accumulatrices de Sélénium [22].
- Les astragales synthétisant des produits nitrés [23].
- Les astragales contenant des alcaloïdes indolizidiques [24].

##### **I.2.5.2 Astragales non toxiques**

La majorité des astragales ne sont pas toxiques. Certaines sont utilisées pour l'alimentation du bétail. *Astragalus nuttalianus* et *A. cicer* rencontrées respectivement dans le Sud-Ouest et à l'Ouest des Etats Unis sont très appréciées par le bétail [25].

### **I.3 Etudes phytochimiques antérieures sur le genre *Astragalus***

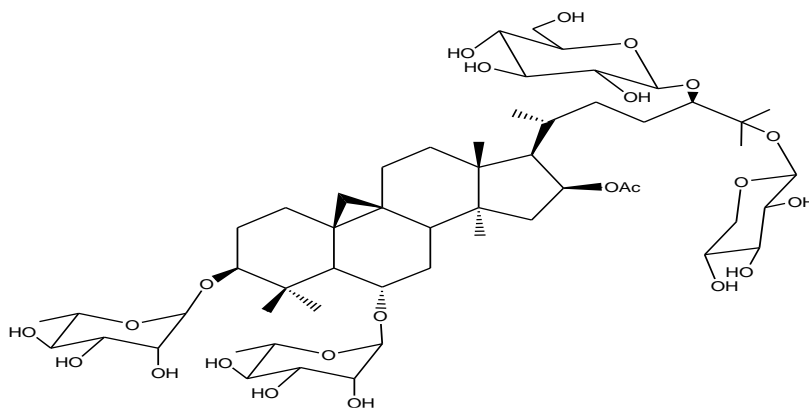
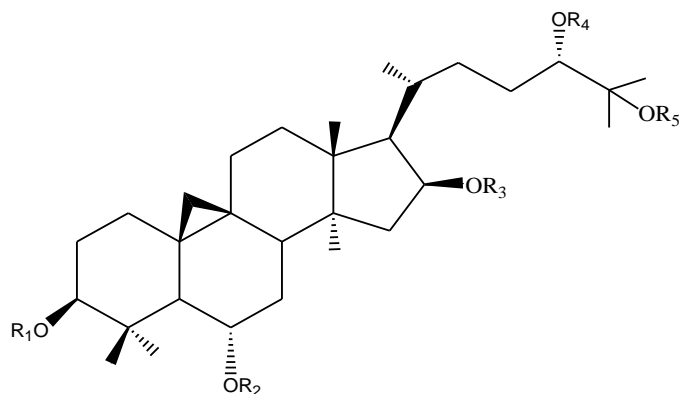
Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *Astragalus*, montre qu'elles ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Différents métabolites secondaires ont été identifiés dans ce genre, particulièrement les polyphénols (flavonoïdes) et les dérivés triterpéniques (saponines). Rassemble les différents métabolites secondaires isolés de plantes de ce genre.

Tableau I.1: Composés isolés du genre *Astragalus* : saponosides de type cycloartane

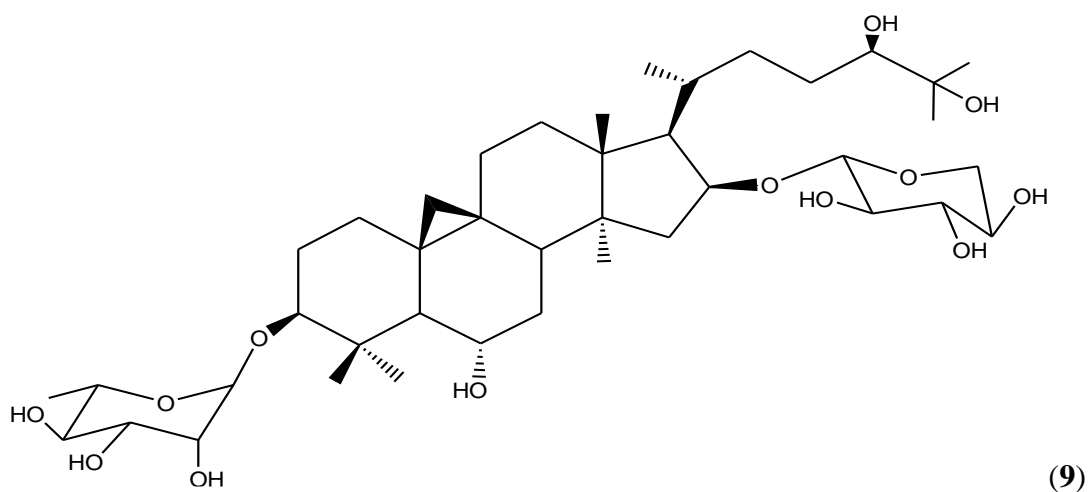
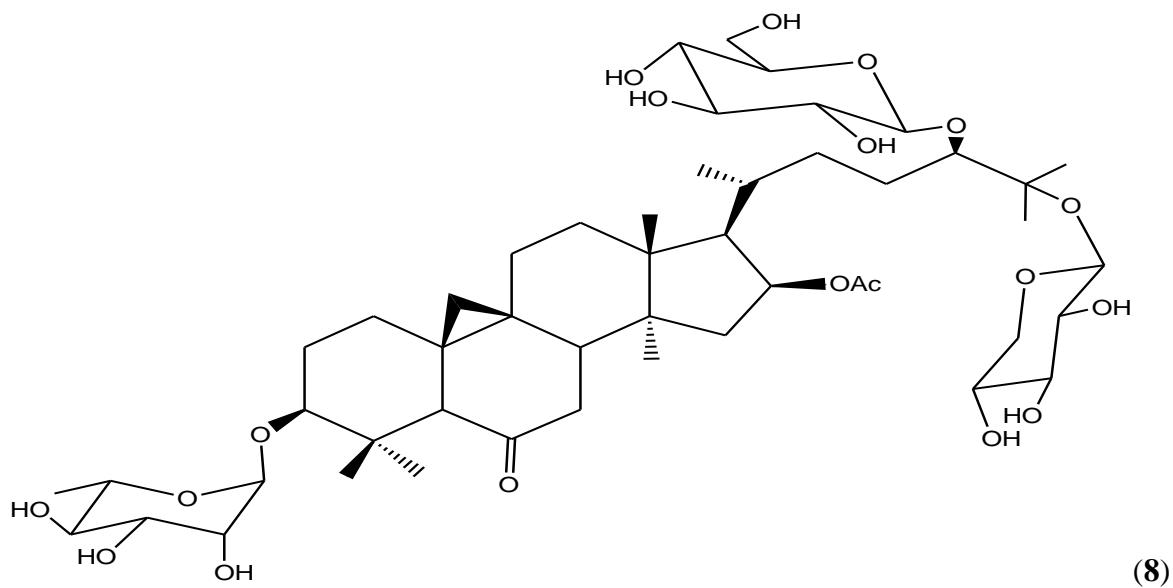
L'espèce	La partie étudiée	Les Composés identifiés	Réf
<i>A. amblelepis</i>	Racines	<p>3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl-25-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,6<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>,24(S),25-pentahydroxycycloartane (1)</p> <p>3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl-25-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,6<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>,24(S),25-pentahydroxycycloartane(2)</p> <p>3-<i>O</i>-[<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl]-25-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,6<math>\alpha</math>,6<math>\beta</math>,24(S),25-pentahydroxycycloartane(3)</p> <p>3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl-24,25-di-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,6<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>,24(S),25-pentahydroxycycloartane(4)</p> <p>6-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-16,24-di-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,6<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>,24(S),25-pentahydroxycycloartane(5)</p> <p>6-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-16,25-di-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,6<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>,24(S),25-pentahydroxycycloartane(6)</p>	[26]
<i>A. cicer</i>	Parties aériennes	Cicerosides A (7), B (8), Eremophiloside B (9).	[27]
<i>A. caspicus</i>	Racines	Caspicuside I (10), Caspicuside II (11), Astragaloside IV (12), Cycloastragenol(13).	[28]
<i>A. bicuspis</i>	Plante Entière	Bicuspiside C (14), Bicusposide D (15), E(16), F (17).	[29]
<i>A. membranaceus</i>	Racines	Agroastragaloside V (18), Agroastragaloside I (19), II (20), Isoastragaloside II (21), Astragaloside IV(12)	[30]
<i>A. plumosus</i> <i>var. Krugianus</i>	Plante entière	krugianoside A (22)	[31]
<i>A. halicacabus</i>	Plante entière	(20R,24S)-3- <i>O</i> -[ $\alpha$ -l-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -d-xylopyranosyl]-20,24-epoxy-16- <i>O</i> - $\beta$ -d-glucopyranosyl-	[32]

		3β,6α,16β,25-tetrahydroxycycloartane (23)	
A. <i>Schottianus</i>	Plante entière	20(R),25-epoxy-3-O-β-D-xylopyranosyl-24-O-β-D-gluco- pyranosyl-3β,6α,16β,24α-tetrahydroxycycloartane (24)  20(R) ,25-epoxy-3-O-[β-D-glucopyranosyl (1→2)]-β-D- xylopyranosyl-24-O-β-D-glucopyranosyl -3β,6α,16β, 24α-tetrahydroxycycloartane (25)  3-O-β-D-xylopyranosyl-3β,6α,16β,20(S) ,24(R) ,25- hexahydroxycycloartane (26)	[33]
A. <i>Eremophilus</i>	Parties aériennes	Eremophiloside A (27), B (9), C (28), D (29), E (30), F (31), G (32), H (33), I (34), J (35), K (36).	[34]
<i>A. hareftae</i>	Plante entière	Hareftoside A (37), B (38), C (39), D (40).	[35]

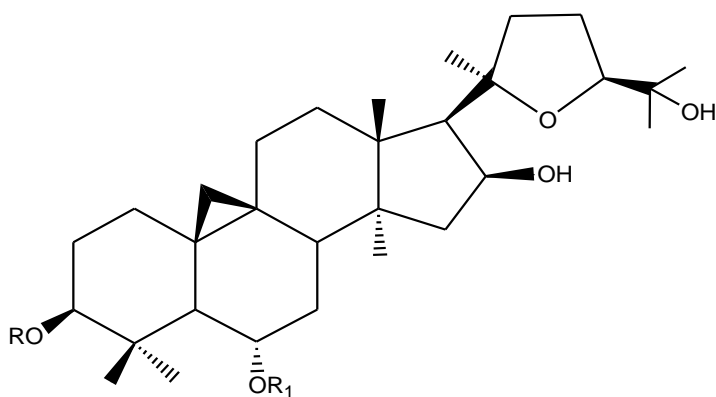
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
1	xyl	H	H	H	Glc
2	xyl	H	Glc	H	H
3	gluc (1→2) xyl	H	H	H	Glc
4	xyl	H	H	glc	Glc
5	H	rha	Glc	glc	H
6	H	rha	H	H	Glc



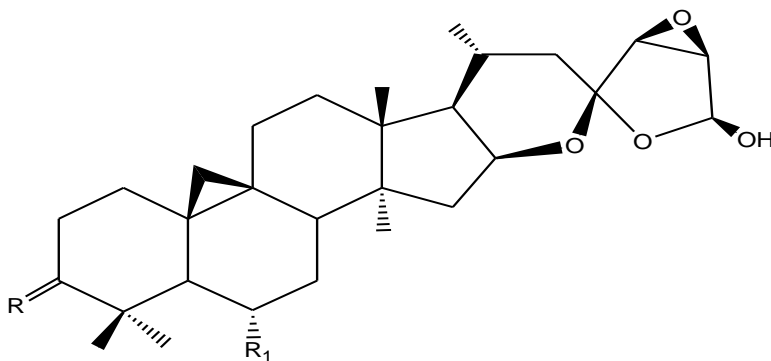
(7)



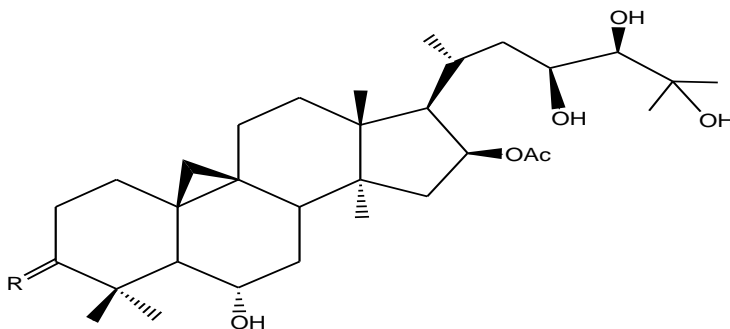
	R	R <sub>1</sub>
10	xyl (1→3) glc	xyl
11	xyl	glc
12	H	H



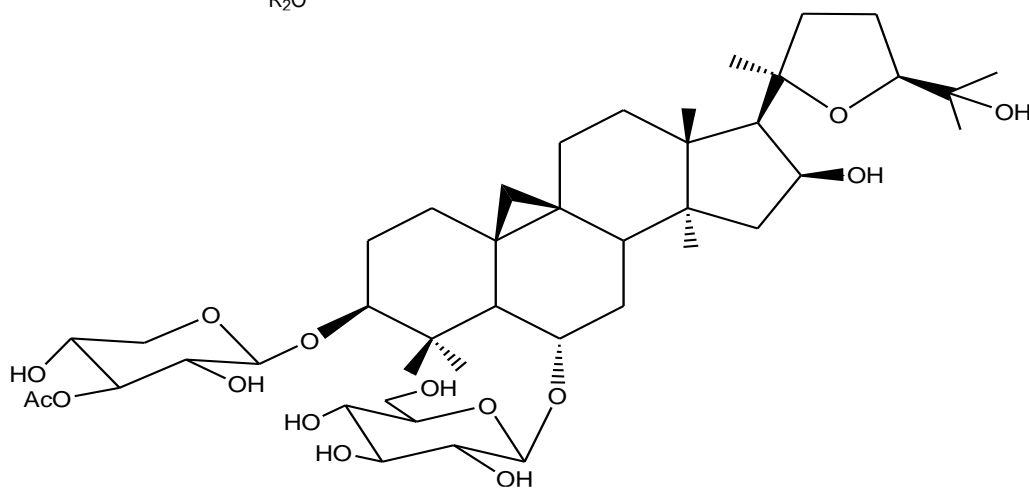
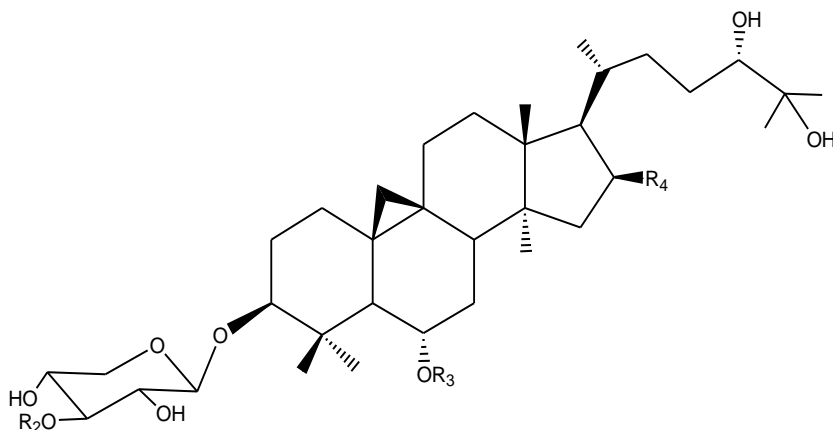
	R	R <sub>1</sub>
13	$\beta$ -O-xyl	O
14	$\alpha$ -OH	O



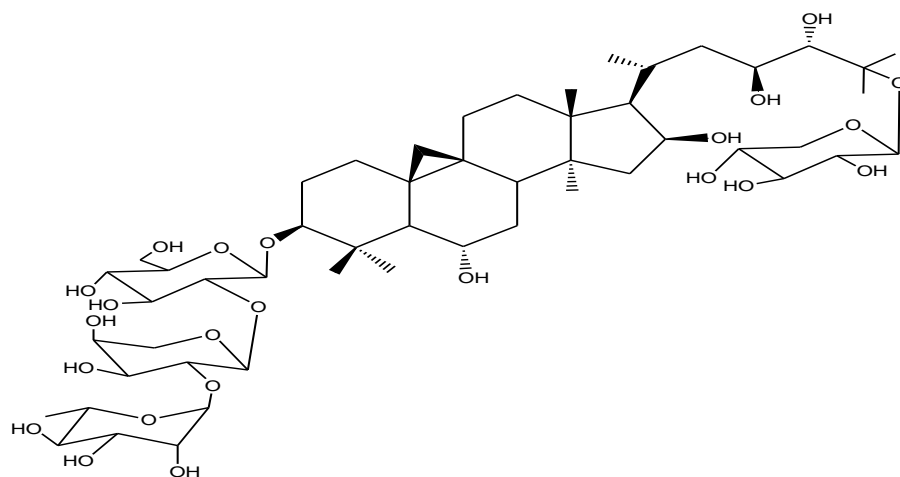
	R
15	O
16	$\beta$ -O-xyl



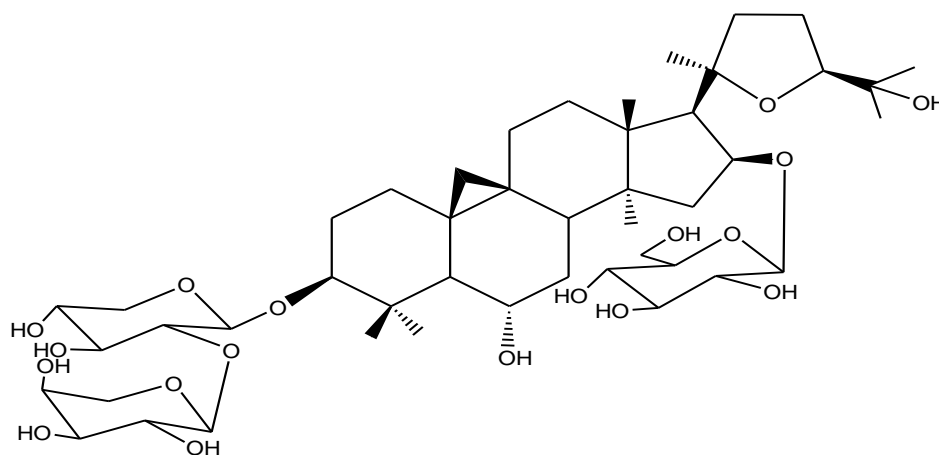
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
17	Ac	H	glc	H
18	Ac	Ac	glc	OH
19	Ac	H	glc	OH



(20)

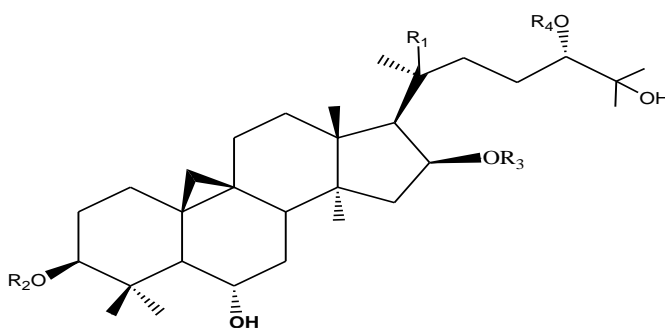


(21)

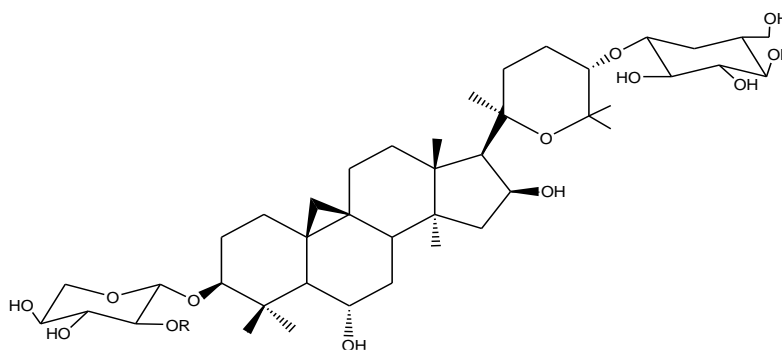


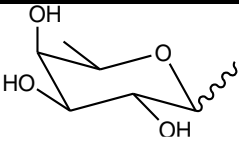
(22)

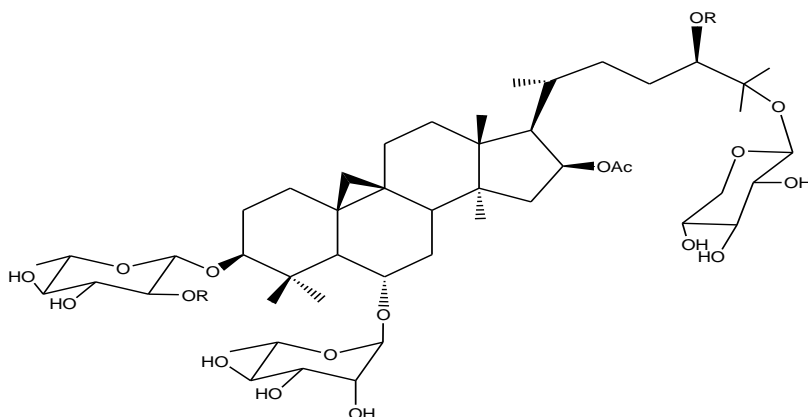
	<b>23</b>
<b>R<sub>1</sub></b>	OH
<b>R<sub>2</sub></b>	xyl
<b>R<sub>3</sub></b>	OH
<b>R<sub>4</sub></b>	OH



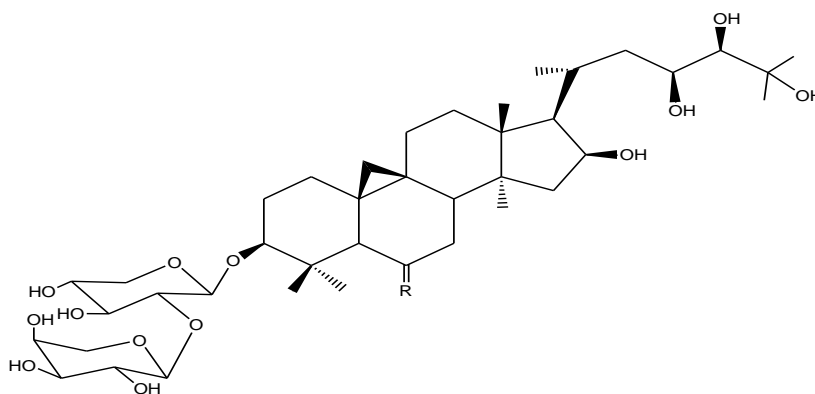
	<b>R</b>
<b>24</b>	H
<b>25</b>	glc



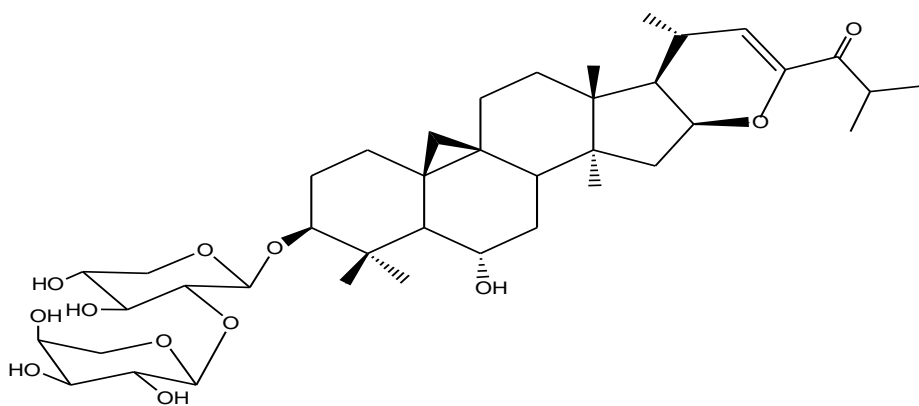
	<b>R</b>
<b>26</b>	
<b>27</b>	<b>H</b>



	<b>R</b>
<b>28</b>	<b>O</b>
<b>29</b>	$\alpha - \text{OH}$

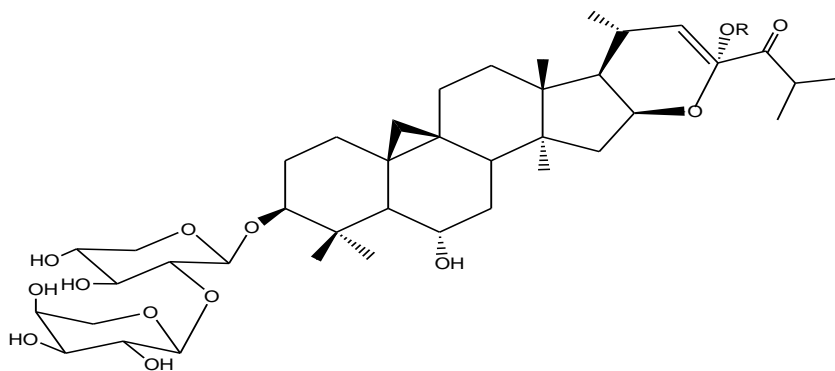


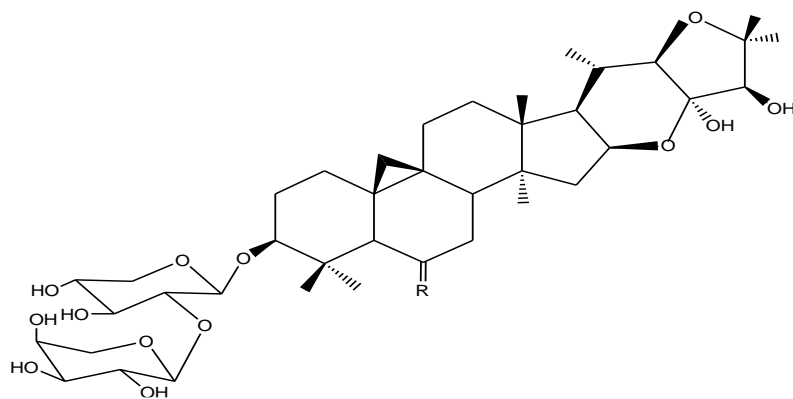
	<b>R</b>
<b>30</b>	$\alpha - \text{OH}$
<b>31</b>	<b>O</b>



(32)

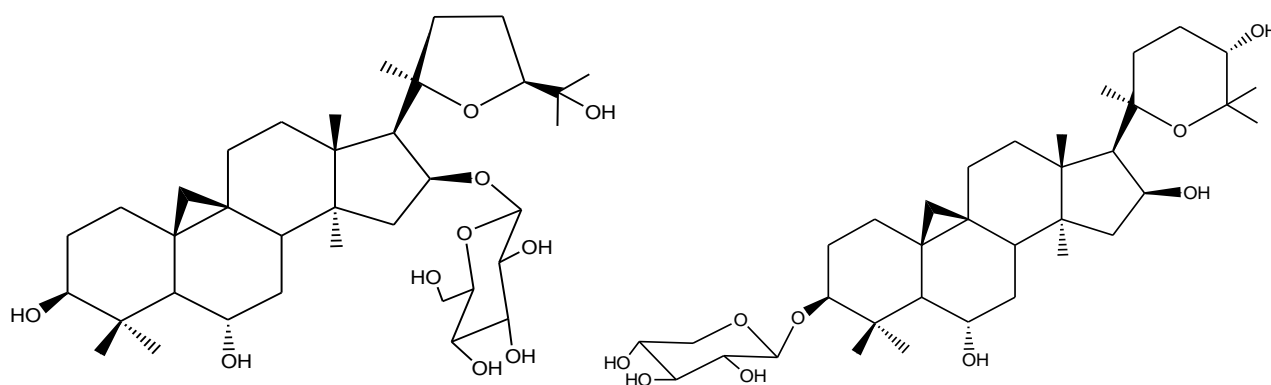
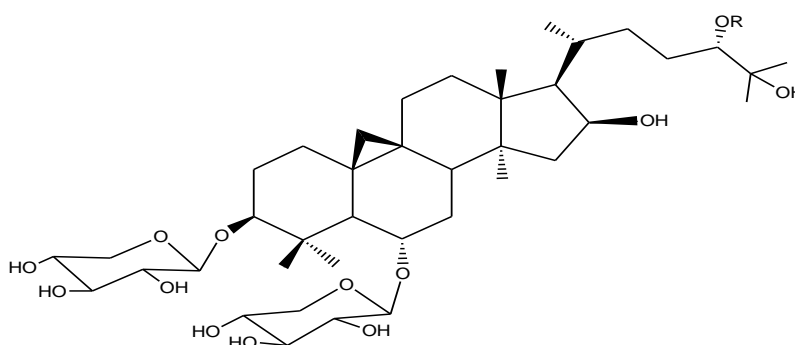
	<b>R</b>
<b>33</b>	$\text{CH}_3$
<b>34</b>	$\text{CH}_2\text{CH}_3$





	<b>R</b>
<b>35</b>	$\alpha - OH$
<b>36</b>	O

	<b>R</b>
<b>37</b>	H
<b>38</b>	xyl



(40)

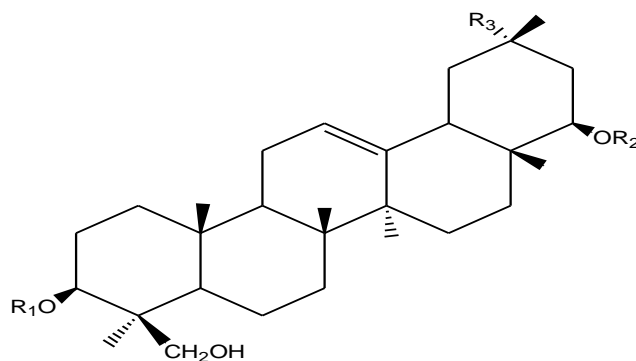
(39)

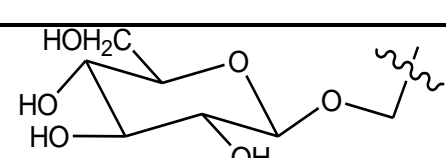
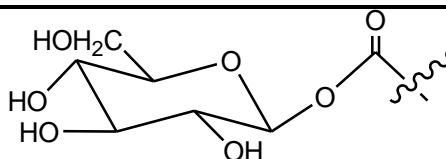
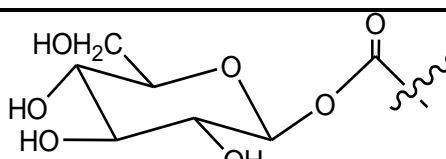
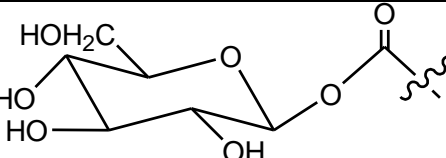
Tableau I.2: Composés isolés du genre *Astragalus* : Saponosides de type oléanane

L'espèce	La partie étudiée	Les Composés identifiés	Réf
<i>A. cruciatus</i>	Plante Entière	Azukisaponine V (41), Astragaloside VIII (42)	[36]
<i>A. hareftae</i>	Plante Entière	3-O-[-D-xylopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucuronopyranosyl]-soyasapogénol B(43)	[35]

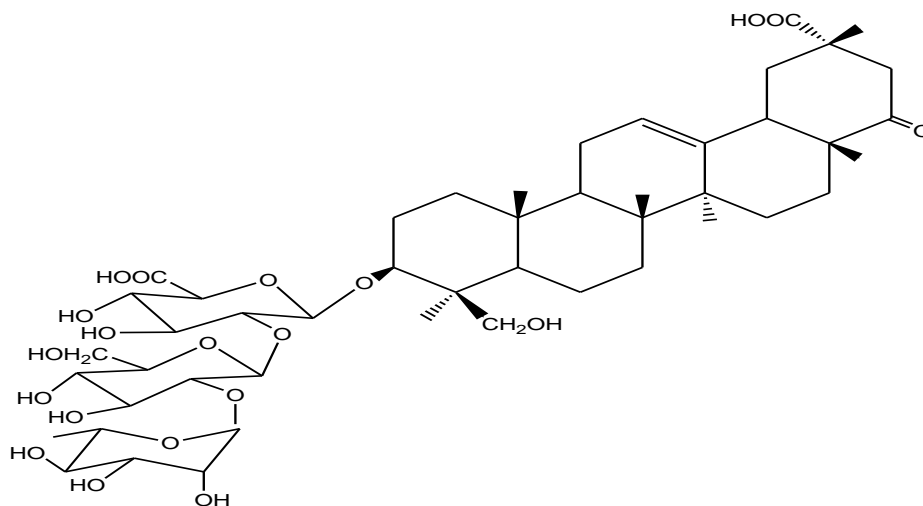
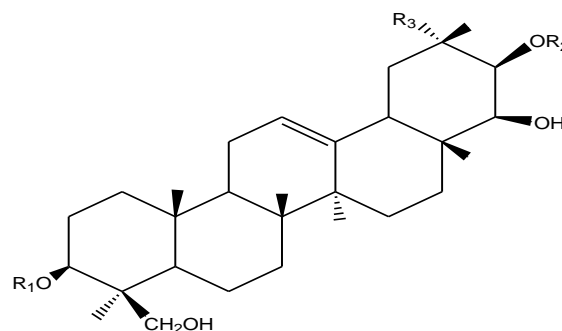
<i>A. bicuspis</i>	Plante Entière	Soyasapogénol B (44)	[29]
<i>A. tauricolus</i>	Plante Entière	<p>3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-29-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>,22<math>\beta</math>, 24,29-tetrahydroxyoléan-12-éne (45)</p> <p>Acide 3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D- glucopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-29-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D- glucopyranosyl-3<math>\beta</math>, 22<math>\beta</math>,24- trihydroxyoléan-12-éne-29-oïque (46)</p> <p>3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-22-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-3<math>\beta</math>, 22<math>\beta</math>,24-trihydroxyoléan-12-éne (47)</p> <p>Acide 3-<i>O</i>-[<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl-29-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl] -3<math>\beta</math>, 22<math>\beta</math>, 24,-trihydroxyoléan-12-éne-29-oïque (48)</p> <p>Acide 3-<i>O</i>-[<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-29-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-3<math>\beta</math>, 22<math>\beta</math>, 24,-trihydroxyoléan-12-éne-29-oïque (49)</p> <p>3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-xylopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-21-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-3<math>\beta</math>, 21<math>\beta</math>, 22<math>\alpha</math>,24-tetrahydroxyoléan-12-éne (50)</p> <p>3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-21-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L- rhamnopyranosyl-3<math>\beta</math>, 21<math>\beta</math>, 22<math>\alpha</math>,24-tetrahydroxyoléan-12-éne (51)</p> <p>3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-glucuronopyranosyl]-3<math>\beta</math>,21<math>\beta</math>,22<math>\alpha</math>,24-pentahydroxyoléan-12-éne (52)</p>	[37]

		Acide 3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-3 $\beta$ ,24-trihydroxyoléan-12-ène-22-one-29-oïque (53)	
--	--	--	--



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
41	rha (1 $\rightarrow$ 2) glc (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	CH <sub>3</sub>
42	rha (1 $\rightarrow$ 2) xyl (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	CH <sub>3</sub>
43	xyl (1 $\rightarrow$ 2) glc (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	CH <sub>3</sub>
44	H	H	CH <sub>3</sub>
45	rha (1 $\rightarrow$ 2) glc (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	
46	rha (1 $\rightarrow$ 2) glc (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	
47	rha (1 $\rightarrow$ 2) xyl (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	CH <sub>3</sub>
48	glc (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	
49	xyl (1 $\rightarrow$ 2) gluc	H	

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
50	rha(1→2)xyl(1→2)gluc	Rha	CH <sub>3</sub>
51	rha(1→2)glc(1→2)gluc	Rha	CH <sub>3</sub>
52	rha(1→2)glc(1→2)gluc	H	CH <sub>2</sub> OH



(53)

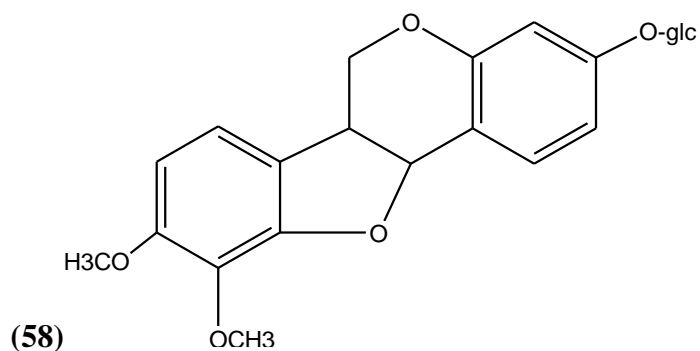
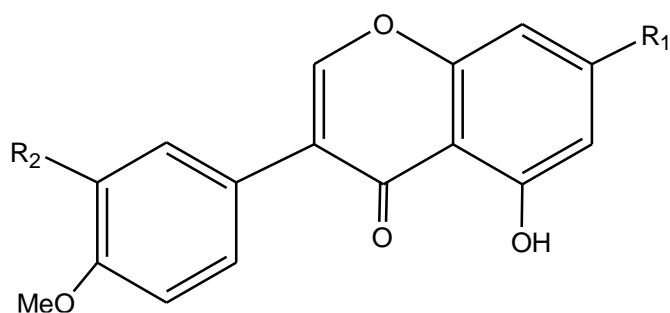
Tableau I.3 Composés isolés du genre *Astragalus* : Flavonoïdes

L'espèce	La partie étudiée	Les Composés identifiés	Réf
A. <i>mongholicus</i>	Racines	Formononetine (54) Ononine (55) Calycosine (56) Calycosine 7-O- glucopyranoside (57) 9,10-diméthoxypterocarpan 3-O-β-D-gluco-pyranoside (58)	[38]
A. <i>gombiformis</i>	Parties aériennes	Kaempférol 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[6-O-(3-hydroxy-3-méthylglutaryl) -β-D-galactopyranoside] (59) 7-méthylkaempférol 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[6-O-(3-hydroxy-3-méthylglutaryl)-β-D-galactopyranoside] (60)	[39]

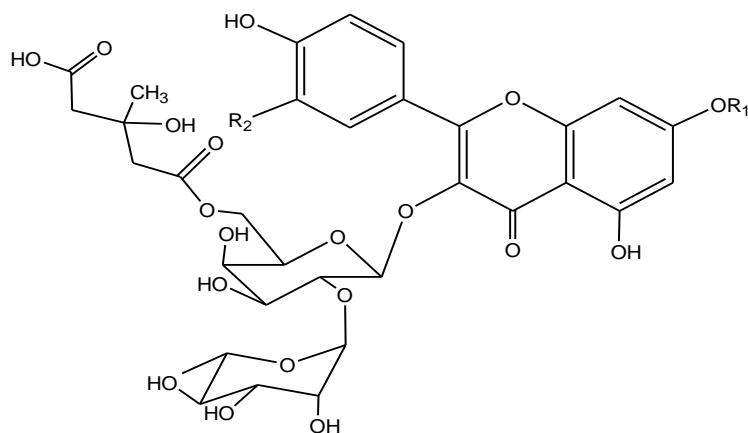
		<p>7-méthylquercetin 3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-[6-<i>O</i>-(3-hydroxy-3-méthylglutaryl) -<math>\beta</math>-D-galactopyranoside] (<b>61</b>)</p> <p>7-méthylquercetin 3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2) -<math>\beta</math>-D-galactopyranoside] (<b>62</b>)</p> <p>7-méthylkaempférol 3-<i>O</i>-<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1<math>\rightarrow</math>2)-<math>\beta</math>-D-galactopyranoside] (<b>63</b>)</p> <p>7-méthylquercetin 3-<math>\beta</math>-D- galactopyranoside] (<b>64</b>)</p>	
<i>A. adsurgens</i>	<p>Plante</p> <p>Entière</p>	<p>Astradurnine (<b>65</b>)</p> <p>4,2',4'-trihydroxy-3'-prenylchalcone (<b>66</b>)</p> <p>2',4'-dihydroxy-3,4-diméthoxychalcone (<b>67</b>)</p> <p>4,2',4'-trihydroxychalcone (<b>68</b>)</p> <p>2',4'-dihydroxy-2,3-diméthoxychalcone (<b>69</b>)</p> <p>2',4'-dihydroxy-4-méthoxychalcone [isoliquiritigenin4-méthyl éther] (<b>70</b>)</p> <p>2',4'-dihydroxy-4-méthoxychalcone (<b>71</b>)</p> <p>Melilotocarpane B (<b>72</b>)</p> <p>2,3-dihydro-5-hydroxy-4,7-diméthoxyflavanone (<b>73</b>)</p> <p>2,3-dihydro-6,3'-dihydroxy-4'-méthoxyflavanone (<b>74</b>)</p> <p>5,7-dihydroxy-4'-méthoxyisoflavanone (<b>75</b>)</p> <p>7,4'-diméthoxyisoflavanone (<b>76</b>)</p> <p>5, 7,2'-trihydroxy-4'-méthoxy- isoflavanone (<b>77</b>)</p> <p>7,3'-dihydroxy-4'-méthoxyisoflavanone (<b>78</b>)</p> <p>(3R)-7,3'-dihydroxy-2',4'-diméhoxy isoflavane [(R) mucronulatol] (<b>79</b>)</p>	[40]

A. cruciatus	Plante Entière	Narcissine ( <b>80</b> )	<b>[36]</b>
		Nicotiflorine ( <b>81</b> )	
		Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -Dglucopyranoside ( <b>82</b> )	
		5, 7,2'-trihydroxyflavone ( <b>83</b> )	

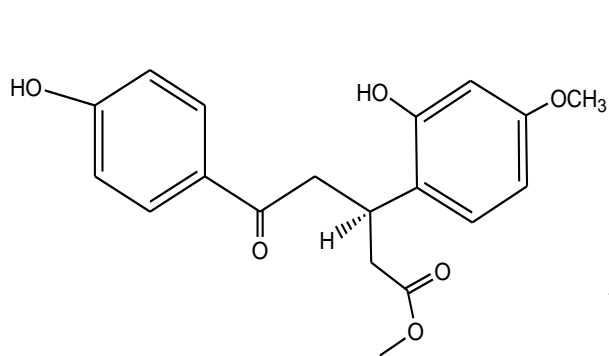
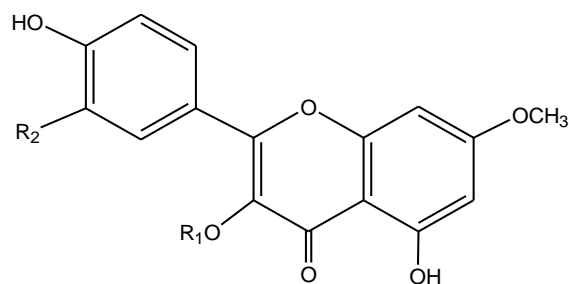
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>54</b>	OH	H
<b>55</b>	Oglc	H
<b>56</b>	OH	OH
<b>57</b>	Oglc	OH



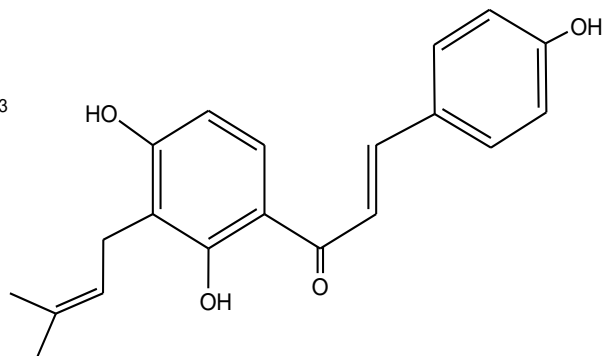
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>59</b>	H	H
<b>60</b>	CH <sub>3</sub>	H
<b>61</b>	CH <sub>3</sub>	OH



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>62</b>	rha (1→2) gal	OH
<b>63</b>	rha (1→2) gal	H
<b>64</b>	gal	OH

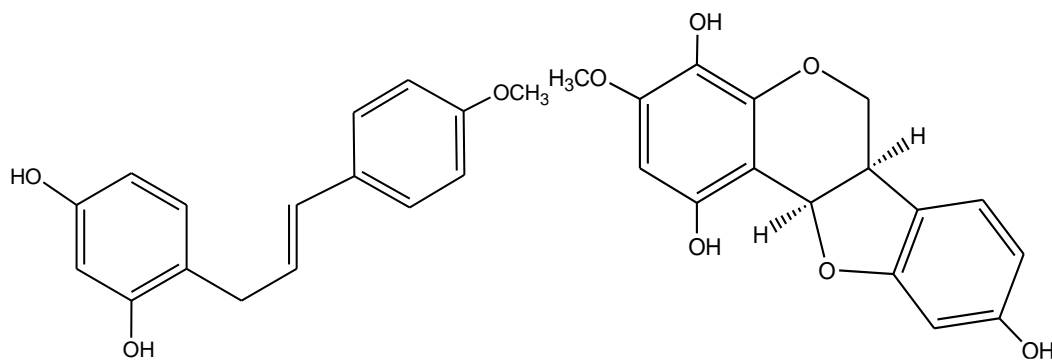
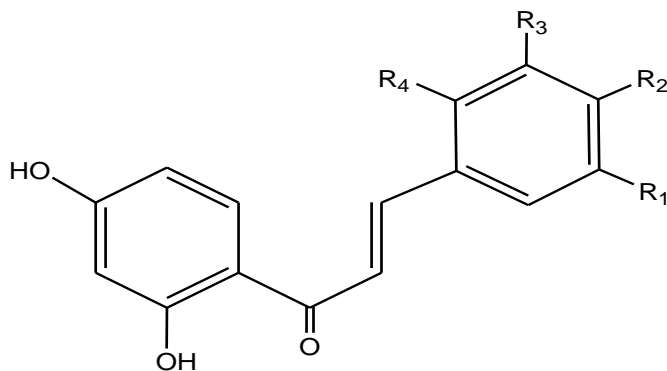


(66)

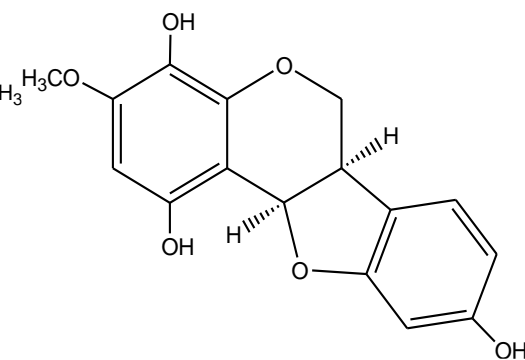


(65)

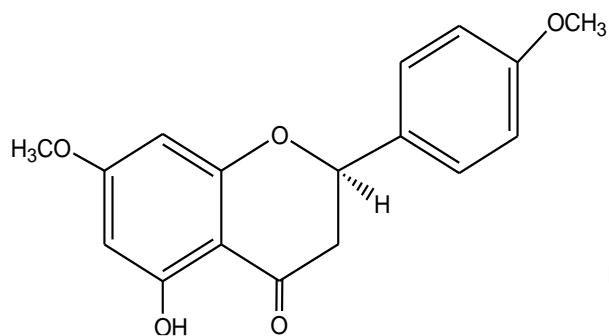
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>67</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
<b>68</b>	H	OH	H	H
<b>69</b>	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>70</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H



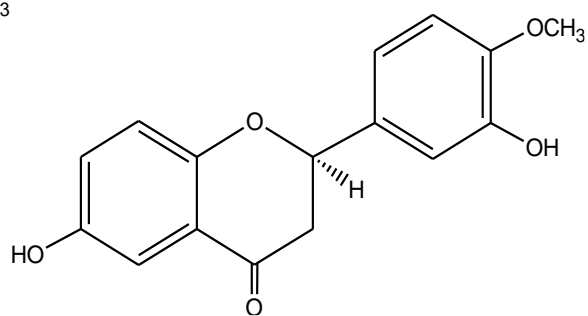
(71)



(72)

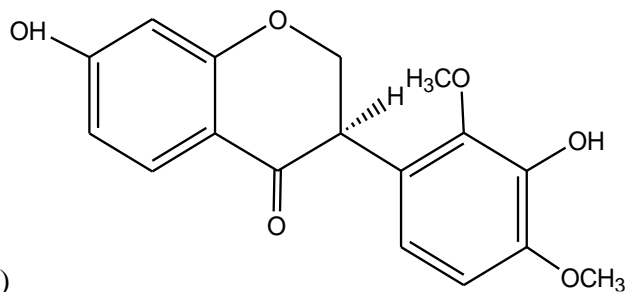
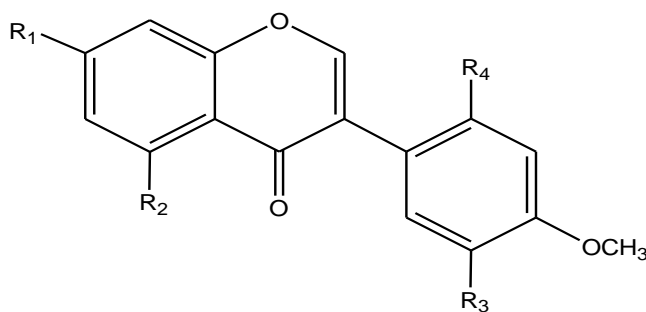


(73)



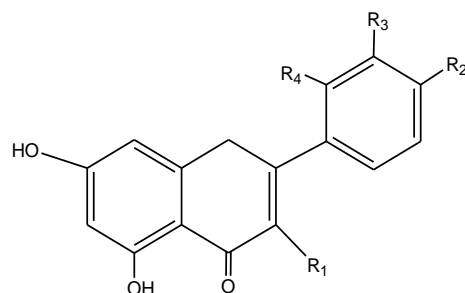
(74)

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
75	OH	OH	H	H
76	OCH <sub>3</sub>	H	H	H
77	OH	OH	H	OH
78	OH	H	OH	H



(79)

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
80	rha (1→6) glc	OH	OCH <sub>3</sub>	H
81	rha (1→6) glc	OH	H	H
82	rha (1→4) rha (1→6) glc	OH	H	H
83	H	H	H	OH



## I.4 Etude des Saponosides

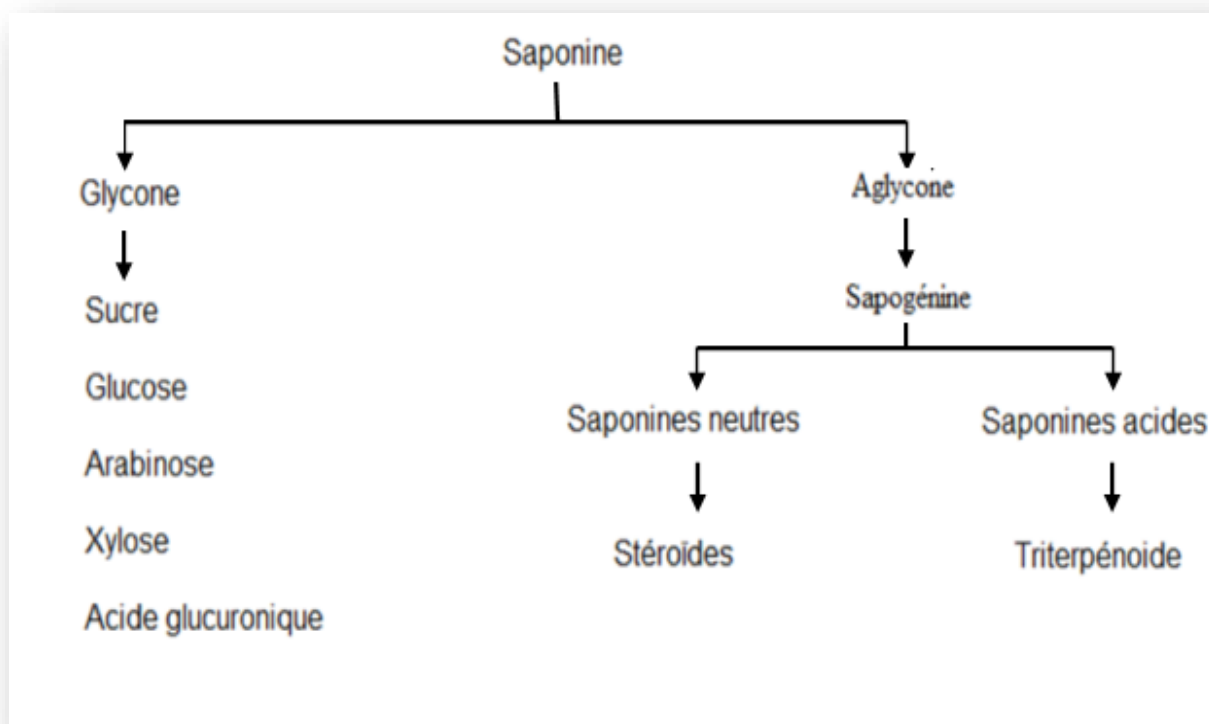
### I.4.1 Définition

Les saponosides sont une classe spécifique de métabolites secondaires, produits naturels retrouvés abondamment dans le règne végétal [41].

Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former, par agitation avec de l'eau, des mousses stables tout comme les savons qui évoque le caractère moussant de leur solution aqueuse. Ce pouvoir tensio-actif est dû au caractère amphiphile des molécules, à la fois lipophile et hydrophile [42].

### I.4.2 Composition des saponines

Les saponines sont composées de deux entités : un noyau lipophile (aglycone, sapogénine) et d'une ou plusieurs chaînes de sucre hydrophiles (glycone) variables selon le type de saponines, La chaîne glucidique est composée de pentoses, d'hexoses ou d'acides glucuroniques(Figure I.4) [43].



I.4: Schéma de la composition des saponines.

### I.4.3 Classification des saponines

Au niveau structural, les saponines sont classées en deux groupes en fonction de la nature de leur génine[44]:

- Saponines aux génines st ro idiques.
- Saponines aux génines triterpéniques.

#### I.4.3.1 Les saponosides st ro idiques

Ce sont des saponines   génines st ro idiques, ils sont connus presque sans exception. Ces saponines sont surtout présentes chez les Monocotylédones dont les Liliaceae et Dioscoraceae et dérivent du noyau spirostane utilisés pour l'hémisynthèse des cortico ides [45].

Les génines st ro idiques sont des composés neutres [46]et possèdent toutes un squelette   27 atomes de carbone qui comportent habituellement six cycles. Compte tenu de la nature spiro du carbone C-22, on désigne couramment ce squelette hexacyclique par le terme de spirostane. Dans les plantes fraiches, il n'est pas rare que l'hydroxyle en C-26 soit engagé dans une liaison avec un ose, la structure restant alors pentacyclique : on parle dans ce cas de furostane (Figure I.5) [47].

Leur structure chimique est similaire   celle de nombreuses hormones humaines et dérive exclusivement de la structure du st rane [45]. Ces sapogénines possèdent toujours une fonction alcool secondaire en 3, susceptible de former une liaison h miatoc talique avec un ose ou un oside [47].

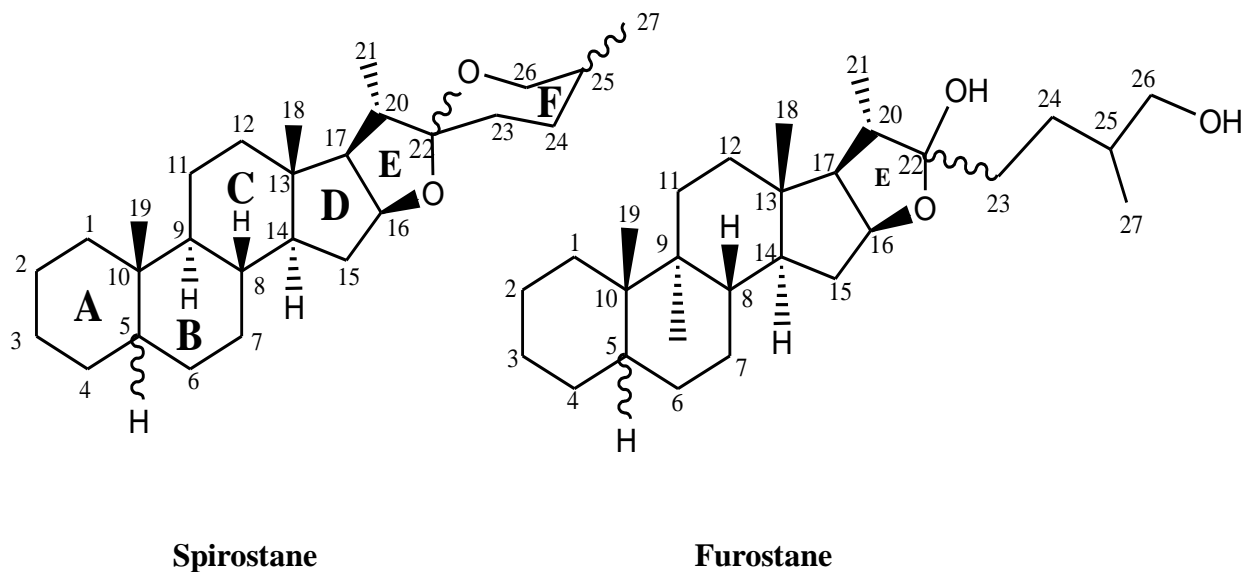


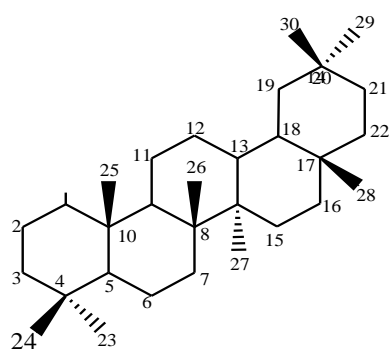
Figure I.5: Représentation de la spirostane et de la furostane.

## I.4.3.2 Les Saponosides triterpéniques

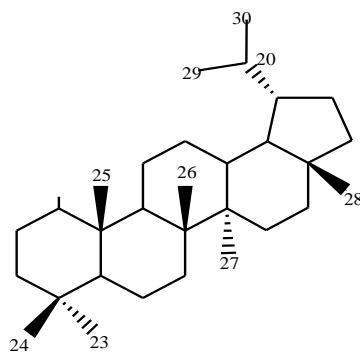
Ce sont des saponines à génines triterpènes, la grande majorité des saponines végétales appartiennent à ce groupe ; elles sont principalement présentes chez les angiospermes dicotylédones [45] « Araliaceae, Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Fabaceae... » .

Elles sont constituées de 30 atomes de carbone [48] se répartissant en :

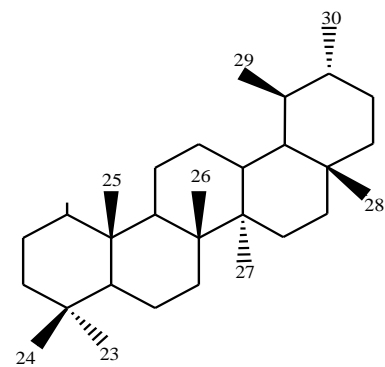
- Triterpène tétracyclique : dammarane, cucurbitane et lanostane.
- Triterpène pentacyclique : oléane, ursane, lupane, friedelane et hopane.



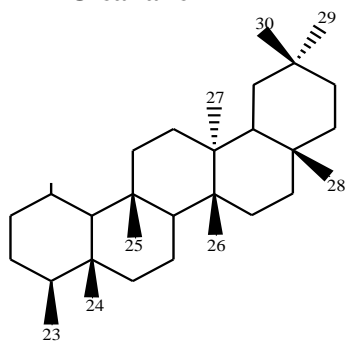
Oléane



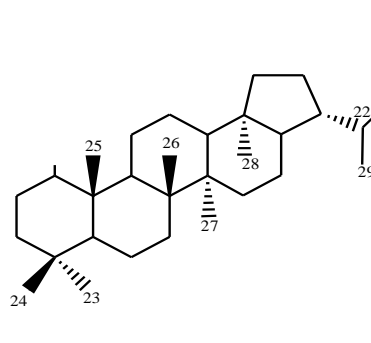
Ursane



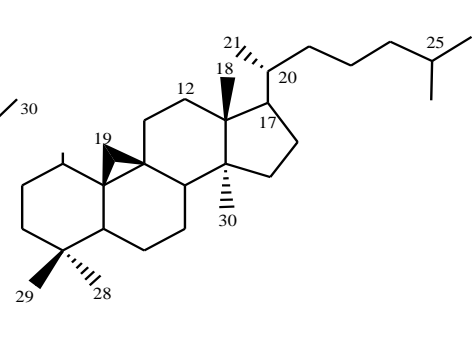
Lupane



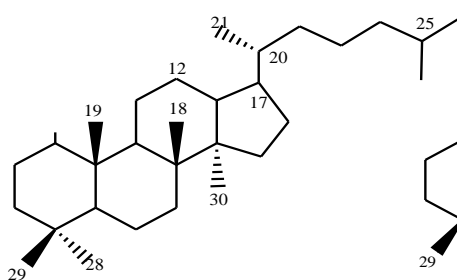
Friedelane



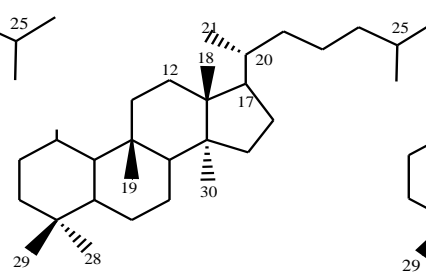
Hopane



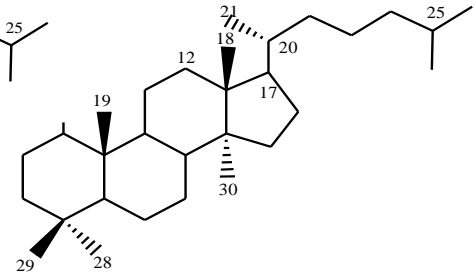
Cycloartane



Dammarane



Cucurbitane



Lanostane

**Figure I.6: Principaux squelettes triterpéniques.****I.4.3.3 La partie osidique**

Les oses sont des composés carbonylés hydroxylés classés en deux séries : D et L, selon que la configuration du C-5. Sur les génines sont liées des chaînes osidiques linéaires ou ramifiées comportant jusqu' à une dizaine d'unités osidiques [49], le plus souvent 3 à 5 oses [50]. La jonction entre la chaîne osidique et la génine est établie par une liaison de type " éther " ou par une liaison de type " ester " [49].

La nature des sections osidiques retrouvées à l'intérieur des saponines est très variée, mais elles sont habituellement constituées de : D-glucose, D-galactose, L-rhamnose, D-xylose, D-fucose, D-apiose et D-arabinose [48]. Les acides réducteurs comme le glucuronique et le galacturonique ont été également décelés [51].

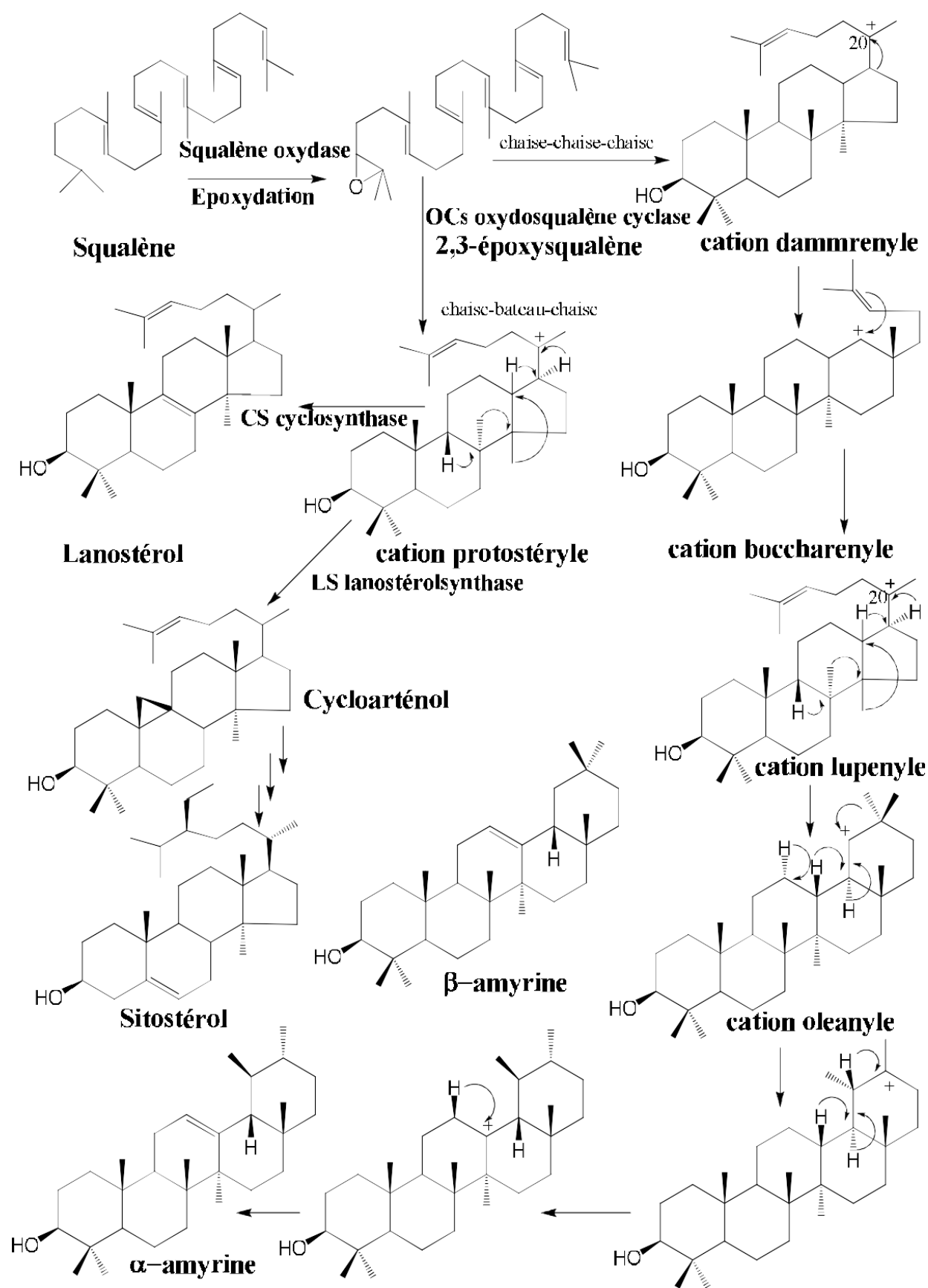
La liaison glycosidique s'effectue entre une seule section saccharidique et le groupement hydroxyle en position 3 de la génine, les saponosides sont dits dans ce cas monodesmosidiques. Lorsque la génine est substituée par deux chaînes osidiques, en positions 3 et 28 on parle de saponosides bidesmosidiques, tridesmosidiques (trois chaînes), voire tétradesmosidique (quatre chaînes).

**I.4.4 Biosynthèse des saponosides**

La grande diversité structurale des saponines peut être expliquée par leurs origines biosynthétiques variées. En effet, à partir de l'oxydosqualène à 30 carbones, la biosynthèse des génines triterpéniques et stéroïdiques est effectuée selon diverses voies métaboliques suivie de l'assemblage des différentes sections osidiques par des enzymes telles que les glycosyltransférases et les glycosidases [51].

Par la suite, des modifications subséquentes peuvent avoir lieu sur la saponine dont, entre autres, des oxydations, réarrangements, méthylations et estérifications, ce qui augmente d'autant plus la possibilité de variations structurales à l'intérieur de cette classe de produits naturels.

Les principes directeurs qui conduisent à l'élaboration des principaux squelettes triterpéniques sont rassemblés dans le schéma suivant :



**Figure I.7: Schéma de biosynthèse des squelettes de base des triterpènes.****I.4.5 Propriétés des saponines****I.4.5.1 Les propriétés physico-chimiques**

Les saponosides possèdent un ensemble de propriétés physico-chimiques qui facilitent leur caractérisation, éventuellement, le pouvoir aphrogène, l'action hémolytique et la saveur âcre. Ils se trouvent généralement sous forme de poudre blanche non cristallisée et sont solubles dans l'eau et les solvants organiques polaires comme les alcools dilués. Ils sont pratiquement insolubles dans les solvants organiques apolaires comme l'acétone, l'éther et l'hexane. Ces composés existent dans la plante sous forme d'un mélange complexe de molécules de structures très proches et de propriétés physicochimiques similaires. De ce fait, les étapes de purification sont délicates et longues, nécessitant plusieurs techniques chromatographiques. Leur point de fusion est compris entre 200°C et 300°C [52].

Agités dans leur solution aqueuse, ils fournissent une mousse persistante et abondante. Les saponosides donnent des solutions aqueuses à allure colloïdale qui dialysent très mal et ont un fort pouvoir émulsionnant.

**I.4.5.2 Les propriétés biologiques**

Reconnues pour avoir un fort potentiel pharmacologique, les saponines ont été intensivement étudiées au cours des dernières années. La communauté scientifique a démontré un intérêt marqué envers cette classe de métabolites secondaires afin d'accélérer le processus lié à leur développement biopharmaceutique. En effet, les saponines exercent des activités biologiques très variées telles que: activité expectorante, anti-inflammatoire, anti-tumorale, chimio-préventive, antidiabétique, analgésique ainsi que des effets hépatoprotecteurs, neuro-protecteurs, antituberculeux ou encore anti-thrombiques[52,53]

Les saponines triterpéniques sont considérées par certains chercheurs comme étant responsables de la plupart des activités biologiques des plantes de la médecine traditionnelle orientale. Elles possèdent en particulier des propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques, cardiovasculaires, cytotoxiques, immunomodulatoire, spermicide et molluscicide [44].

Des propriétés immunoadjuvantes et immunostimulantes ont été mises en évidence dans le cas de certains saponosides et qui pourraient être utilisées dans la formulation de nouveaux vaccins [55].

## *CHAPITRE II*

*Etude phytochimique de  
l'espèce Astragalus depressus*

## II.1 Résultats et discussions

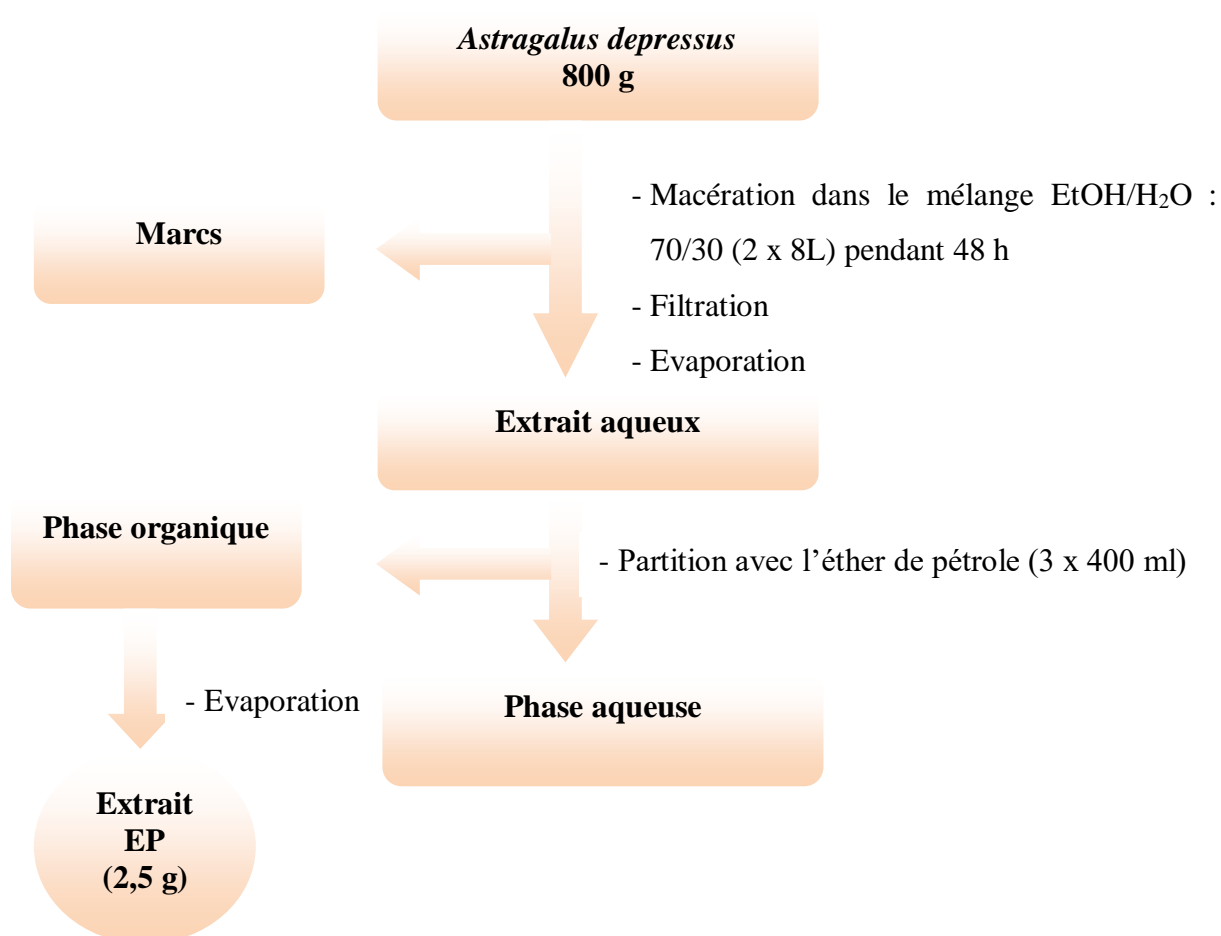
### II.1.1 Extraction

Le matériel végétal constitué de racines sèches et broyées (800 g) d'*Astragalus depressus*, est soumis à une double macération hydro-alcoolique EtOH-H<sub>2</sub>O (70/30) à température ambiante

Après filtration et concentration, 500 ml d'extrait aqueux ont été obtenus. Ce dernier subit une extraction liquide-liquide avec différents solvants à polarité croissante (éther de pétrole, acétate d'éthyle et *n*-butanol). Les extraits totaux obtenus sont pesés pour donner :

- 2,5 g d'extrait brut d'éther de pétrole (EP).
- 9,5 g d'extrait brut d'acétate d'éthyle (AcOEt).
- 25 g d'extrait brut de *n*-butanol (BuOH).

Le schéma ci-dessous (Figure II.1) présente les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des trois extraits.



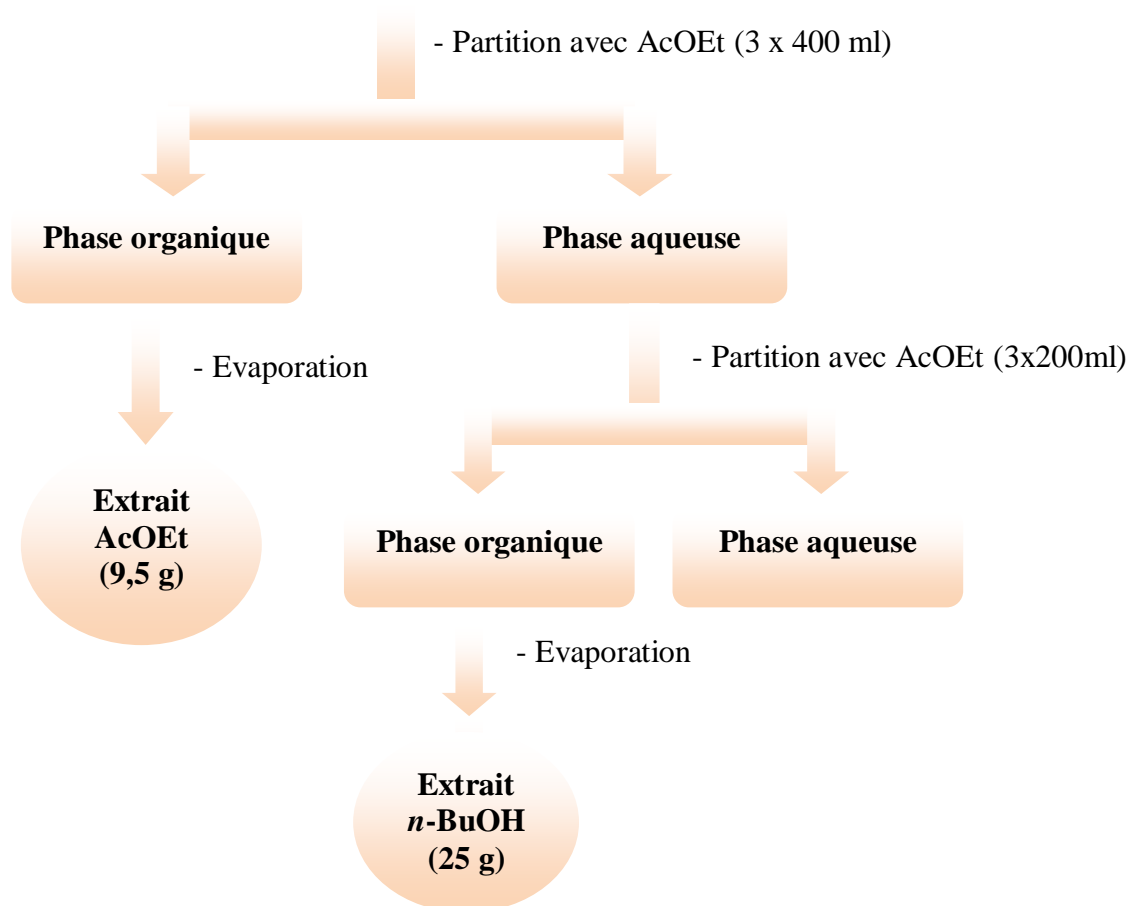


Figure II.1 : Protocole d'extraction de la plante *Astragalus depressus*

### II.1.2 Séparation et purification

La comparaison des profils CCM en phase normale des trois extraits obtenus précédemment dans différents systèmes d'élution, montre bien la richesse de l'extrait acétate d'éthyle en métabolites secondaires. L'intérêt porté à l'investigation chimique de l'extrait acétate d'éthyle est justifié par ce constat.

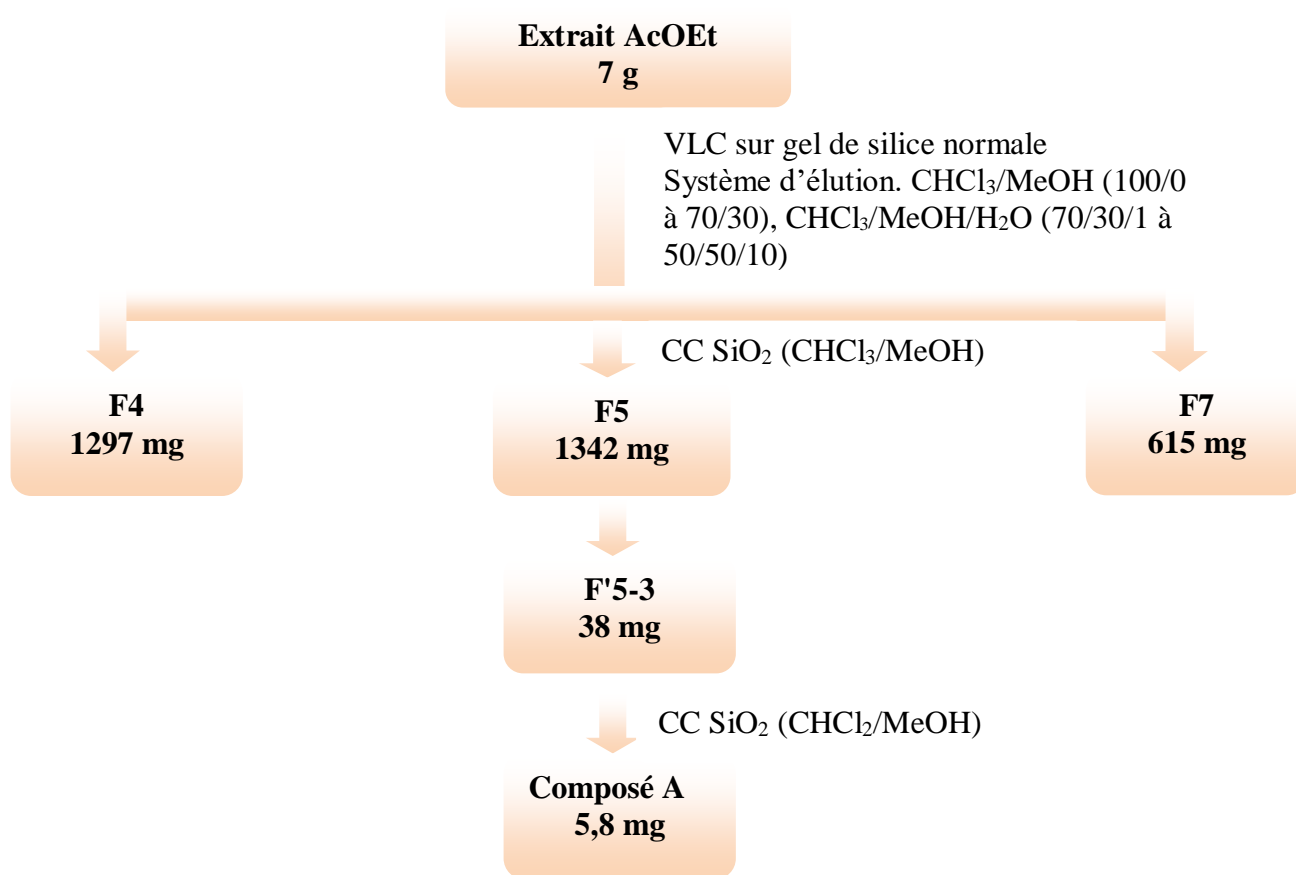
7 g de cet extrait sont soumis à une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur silice normale avec les gradients d'élution :  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (100:0 à 70:30) et  $\text{CHCl}_3$ -MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (70:30:1 à 50:50:10).

La purification des fractions résultantes, au niveau de cet extrait, est réalisée en deux techniques chromatographiques qui sont :

- Chromatographie sur colonne de gel de silice normale (CC).
- Chromatographie sur colonne de sephadex LH-20.

La purification de la fraction F5 (1g) est réalisée en trois étapes : chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant un gradient de solvants chloroforme-méthanol, puis une chromatographie sur colonne de sephadex LH-20 éluée par le méthanol pur comme solvant. Une ultime purification sur colonne de gel de silice normale éluée par un gradient de solvant  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , a conduit à l'isolement du composé A (5,8 mg).

Le fractionnement de l'extrait Acétate d'éthyle d'*Astragalus depressus* est présenté dans le schéma suivant (Figure II.2):

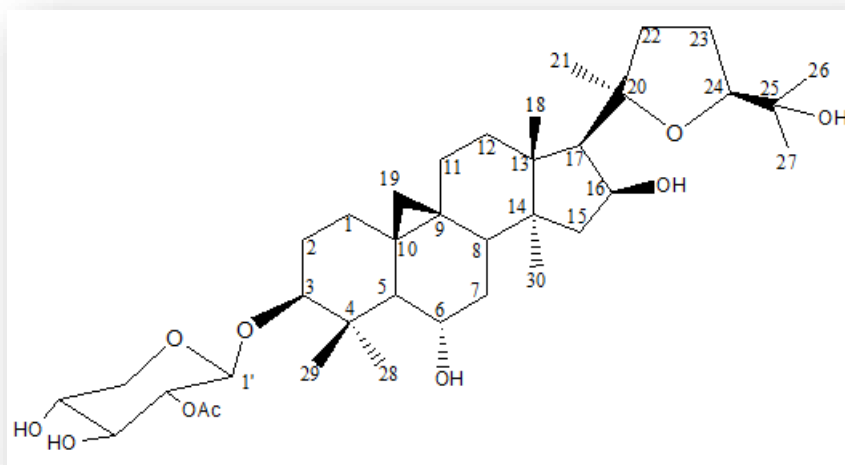


**Figure II.2:** Schéma de purification de produit issu de l'extrait AcOEt d'*A. Depressus*.

### II.1.3 Caractérisation de produit obtenu :

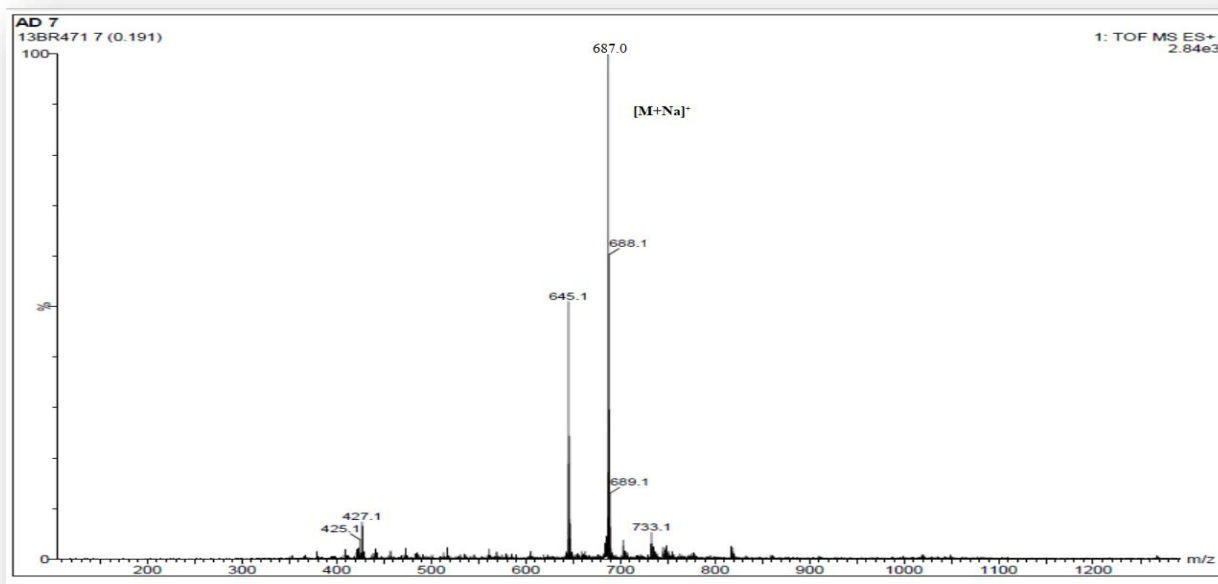
Le produit isolé a été caractérisé par les méthodes spectroscopiques d'analyse RMN<sup>1</sup>H et RMN<sup>13</sup>C, RMN 2D (COSY H-H, HSQC, HMBC et ROESY), spectrométrie de masse ESI, la mesure des pouvoirs rotatoires et par comparaison avec les données de la littérature.

## II.1.3.1 Elucidation structurale du composé A :



**3-O-(2'-O-acétyl)- $\beta$ -D-xylopyranosyl-20(R),24(S)-époxy-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16  $\beta$ ,25-tetrahydroxycycloartane (A)**

Le spectre de masse ESI du composé A, obtenu en mode positif (Figure II.3), indique la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 687$   $[M+Na]^+$ . Ceci correspond à une masse moléculaire de 664 uma soit une formule brute en  $C_{37}H_{56}O_{10}$ .



**Figure II.3: Spectre de masse ESI<sup>+</sup> du composé A**

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de ce composé (Figure II.4), enregistré dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$ , indique la présence :

- Sept signaux singulets à champ fort résonant dans l'intervalle [0,92-1,29] ppm, caractéristiques de protons méthyliques :  $\text{CH}_3\text{-29}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,92),  $\text{CH}_3\text{-30}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,02),  $\text{CH}_3\text{-26}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,14),  $\text{CH}_3\text{-28}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,22),  $\text{CH}_3\text{-21}$  ( $\delta_{\text{H}}$  27,1),  $\text{CH}_3\text{-27}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,28),  $\text{CH}_3\text{-18}$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,29).
- Deux signaux fortement blindés sous forme de doublet : H-19a [ $\delta_{\text{H}}$  0,60(*d*,  $J=4,3$  Hz)], H-19b [ $\delta_{\text{H}}$  0,28(*d*,  $J=4,3$  Hz)], caractéristiques de deux protons non équivalents d'un noyau cyclopropane.
- Un signal sous forme de doublet de doublet à  $\delta_{\text{H}}$  3,17 (1H, *dd*,  $J= 11,6; 4,5$  Hz) d'un proton porté par un carbone oxyméthine (H-3).

Le même spectre montre également la présence de plusieurs signaux entre 3 et 5 ppm, ainsi qu'un signal doublet résonant  $\delta_{\text{H}}$  4,42 (*d*,  $J=7,9$  Hz, H-1') caractéristique de proton anomère de sucre, traduisant la présence d'une seule unité osidique.

A partir des éléments précédents notre composé est de nature triterpénique à squelette cycloartane possédant une seule unité osidique.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  permet d'observer un signal singulet d'intégration 3H résonant à 2.10 ppm, montre la présence d'un groupement acétate.

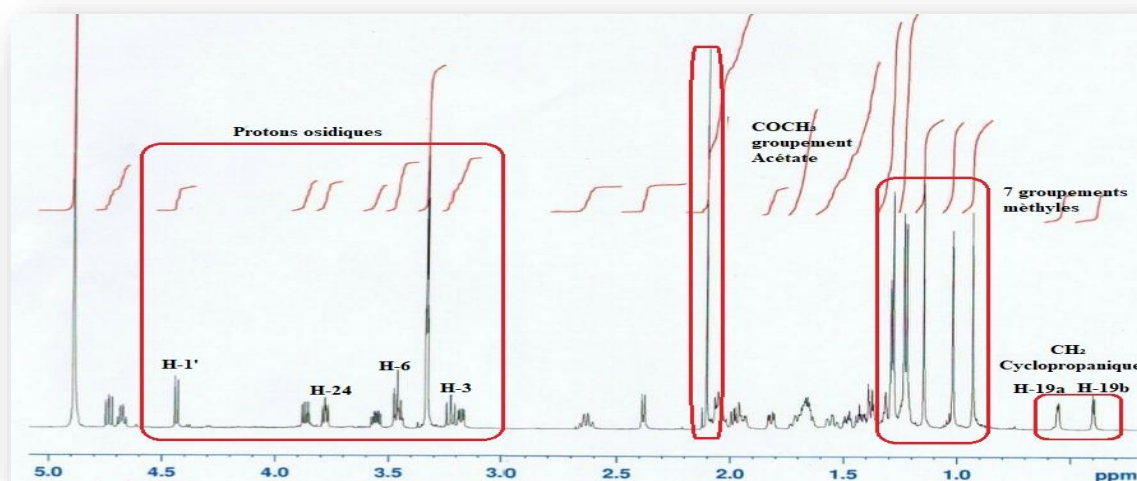


Figure II.4 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé A

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT et RMN  $^{13}\text{C}$  (Figures II.5 et II.6) montrent les signaux caractéristiques à sept méthyles, neuf méthylènes, sept atomes de carbones quaternaires, attestant la nature triterpénique du composé. Il permet également de visualiser le carbone anomère à 103,8 ppm, attestant de l'existence d'un sucre. Il est en outre détecté un carbone quaternaire à 170.4 ppm, attribuable à un carbonyle d'ester. De plus, un signal d'un carbone C-3 est fortement déblindé à  $\delta_c$  88.6 du fait de la présence d'une substitution osidique.

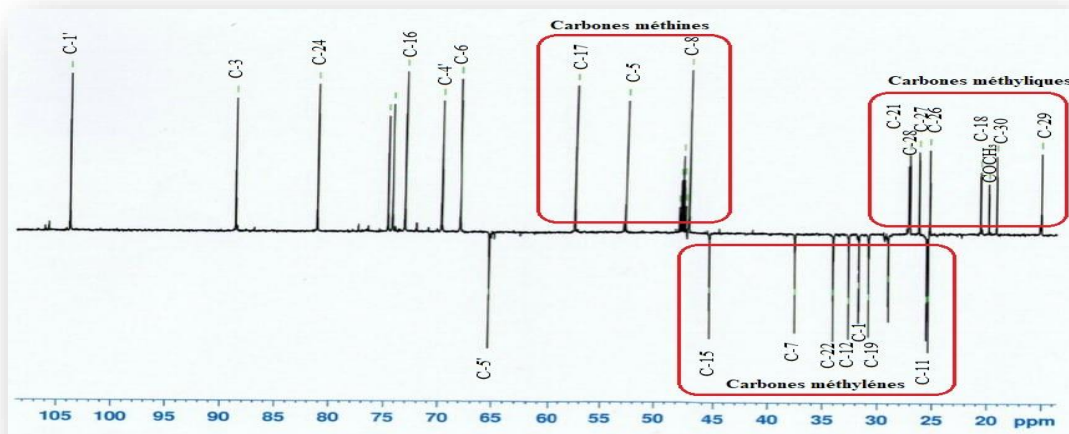


Figure II.5: Spectre RMN $^{13}\text{C}$  DEPT du composé A

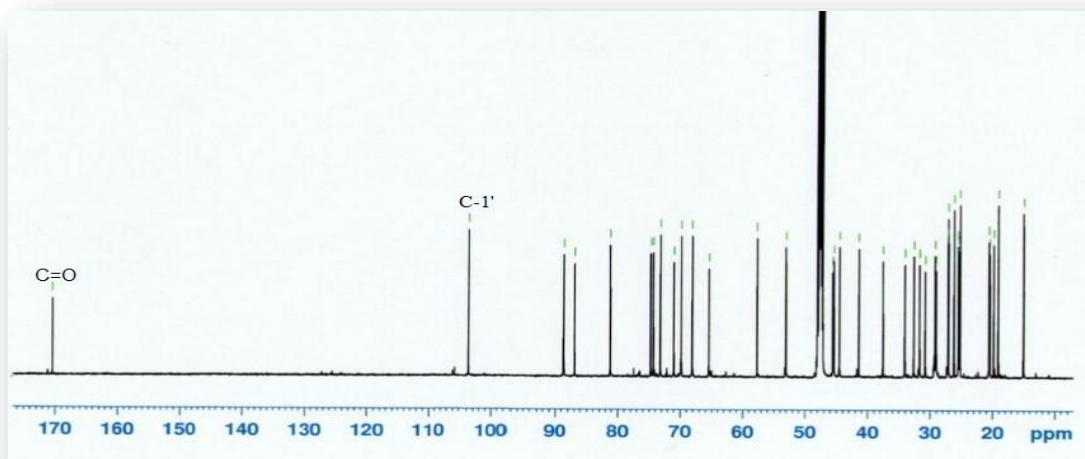


Figure II.6: Spectre RMN $^{13}\text{C}$  du composé A

### Identification de la génine

L'expérience hétéronucléaire HSQC (figures II.7 et II.8) permet de repérer les corrélations entre les protons et leurs carbones correspondants comme suit :

- Les protons méthyliques corrélient avec les carbones à  $\delta_C$  15,0 (C-29), 19,1(C-30), 20,6(C-18), 25,1(C-26), 26,2(C-27), 27,2(C-28), 27,1(C-21).
- Le méthyle du groupement acétate  $\text{CH}_3$  à 2,1 ppm avec son carbone 19,1 ppm.
- Le carbone C-19 du noyau cyclopropane à 30,8 ppm.
- Le carbone anomère de la partie osidique à 103,8 ppm.
- Le carbone C-3 de la génine à  $\delta_C$  88,6. La valeur de ce déplacement chimique suggère une glycosylation à ce niveau.

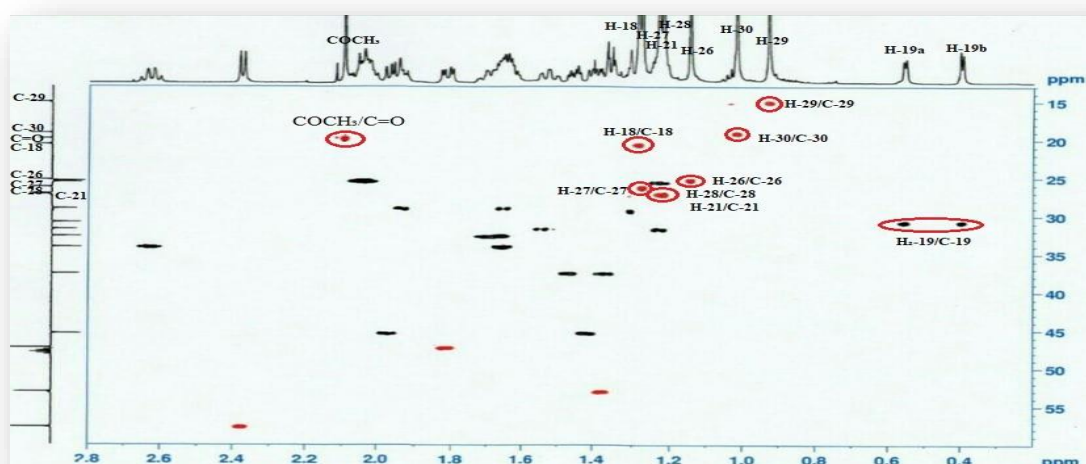


Figure II.7: Spectre HSQC du composé A

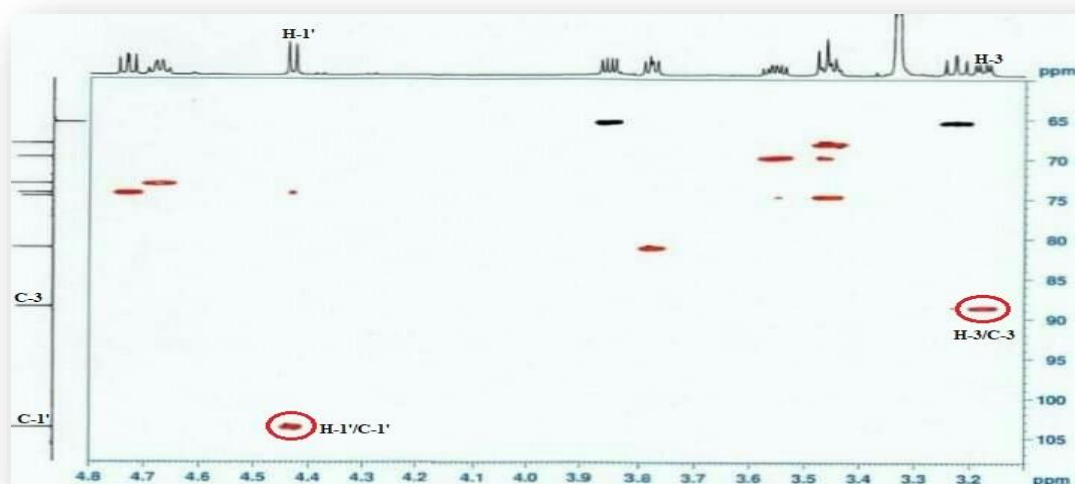


Figure II.8 : Spectre HSQC du composé A

Cette glycosylation en C-3 de la génine est confirmée par expérience HMBC (Figure II.9) qui montre un couplage en  $^3J$  entre ce carbone et le proton anomère H-1' (4.43 ppm) de l'unité osidique.

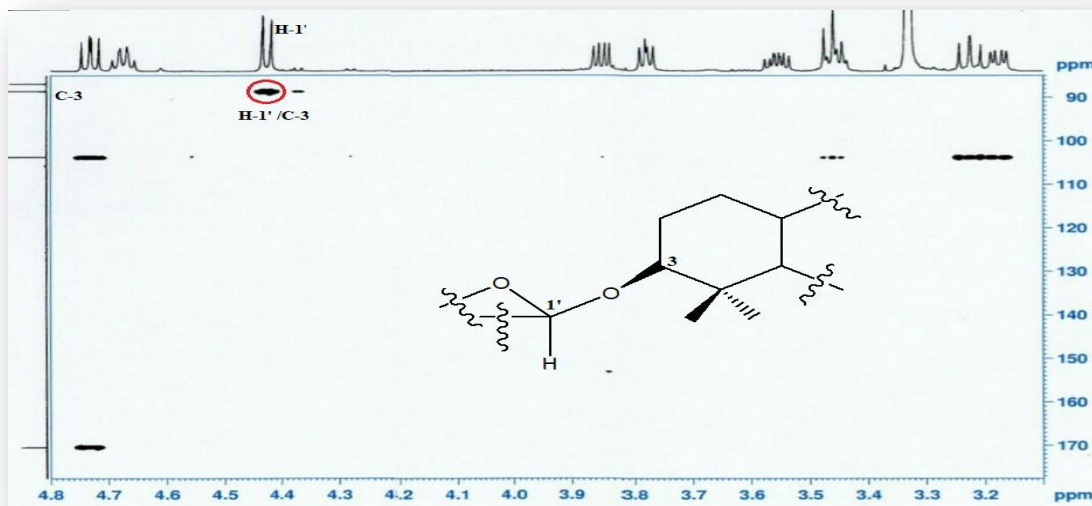


Figure II.9 : Spectre HMBC du composé A

L'expérience de corrélation hétéronucléaire longue distance HMBC (figure II.10), constitue un excellent outil d'élucidation structurale car permettant de caractériser un grand nombre de carbones de la génine par observation de leurs couplages en  $^2J$  et  $^3J$  avec les protons méthyliques, chacun corrélant au maximum avec quatre atomes de carbone. Ainsi les protons méthyliques Me-28 et Me-29 géminés résonant respectivement à 1,22 et 0,93 ppm, sont les seuls à corrélérer avec le carbone C-3 ( $\delta_c$  88,6) de la génine. Ils corrélerent également avec le carbone quaternaire C-4 (41,4 ppm), le carbone C-5 (53,0 ppm).

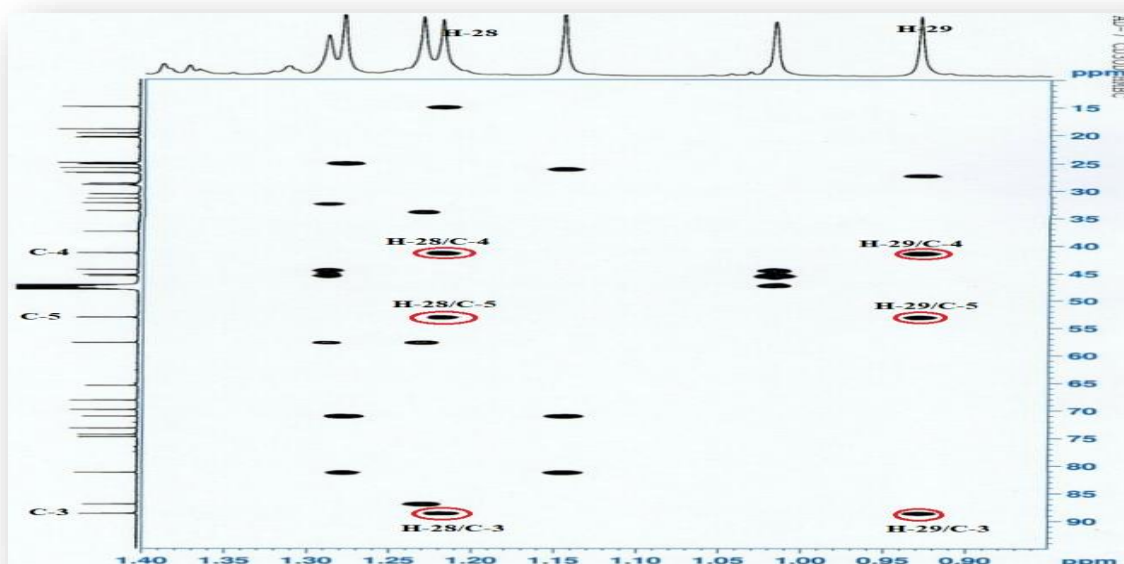


Figure II.10 : Spectre HMBC du composé A

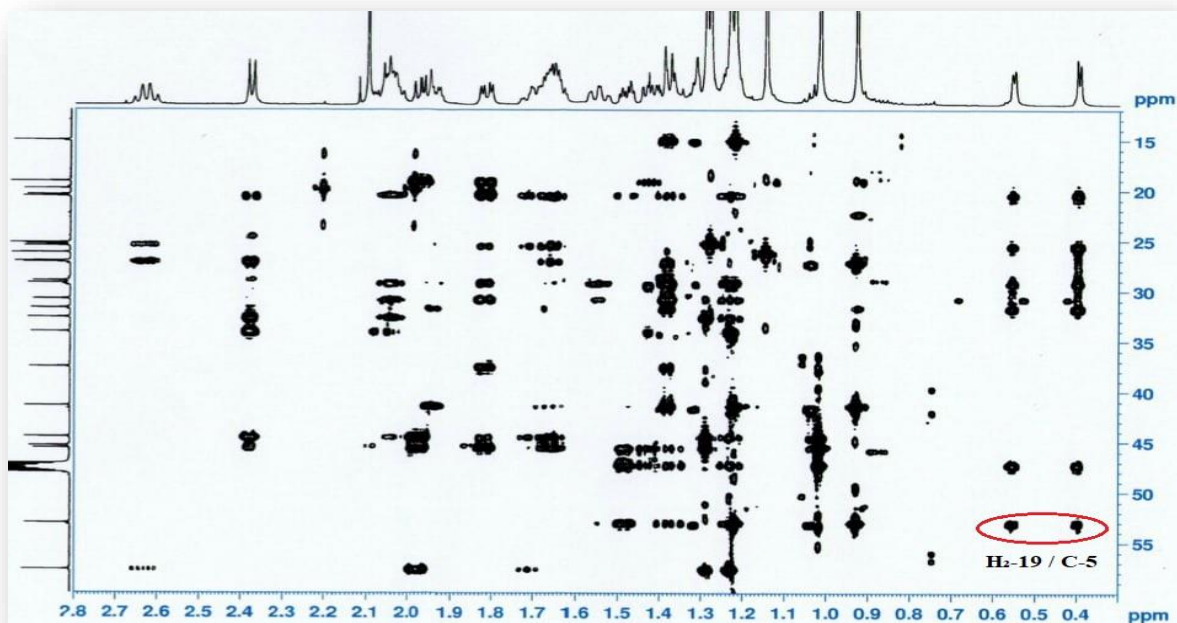


Figure II.11 : Spectre HMBC du composé A

Le proton H-5 résonant à 1,37 ppm identifié par expérience HSQC, montre sur la carte HMBC (Figure II.12) cinq taches de corrélation avec les carbones C-28 ( $\delta_C$  27,2), C-29 ( $\delta_C$  15,0), C-19 ( $\delta_C$  30,8), C-4 ( $\delta_C$  41,4) et C-3 ( $\delta_C$  88,6) déjà identifiés.

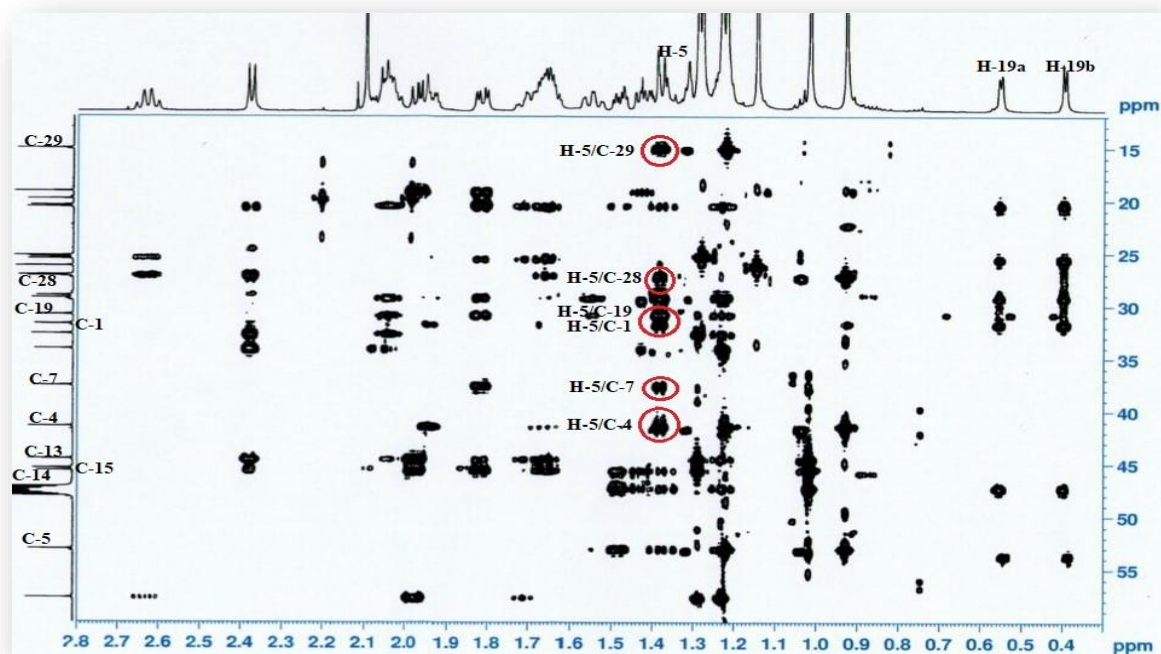
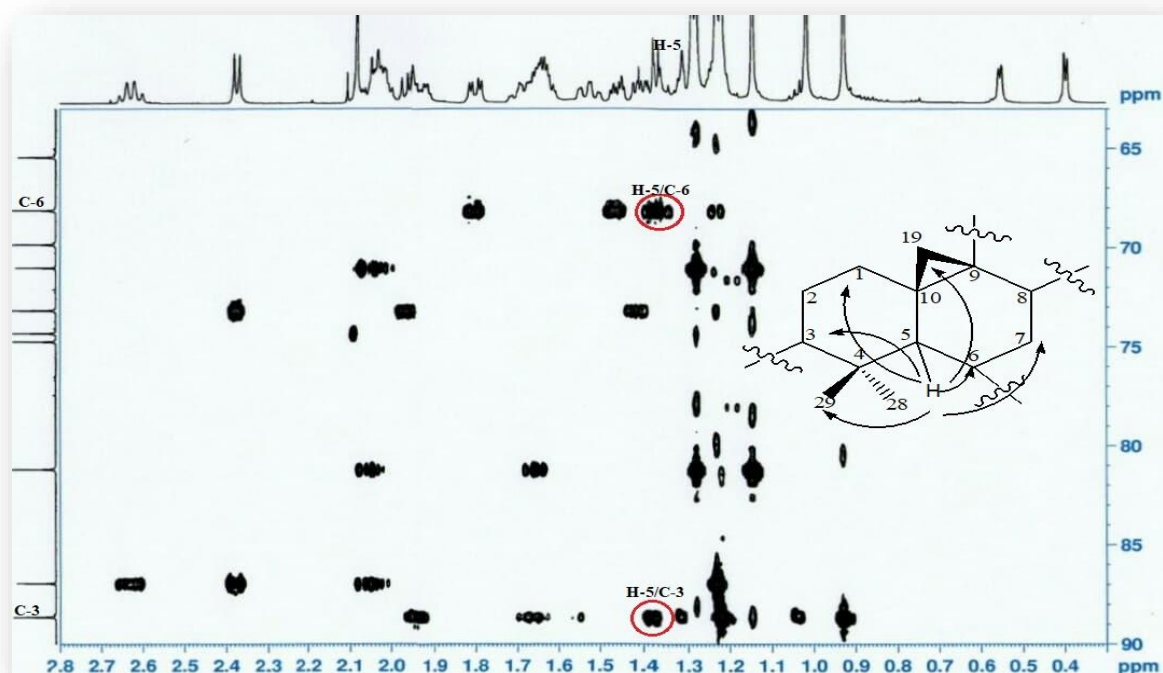


Figure II.12 : Spectre HMBC du composé A

Le proton H-5 corrèle aussi avec trois carbones, la première tâche de corrélation apparait avec le carbone résonant à 31,7 ppm attribuable au C-1 de la génine du fait de son couplage avec les protons CH<sub>2</sub>-19 du noyau cyclopropane, la deuxième avec le carbone résonant à  $\delta_C$  37,6 attribuable au carbone C-7, la troisième avec le carbone C-6 à 68,1 ppm qu'il est porteur d'un groupement hydroxyle (Figure II.13).



**Figure II.13 : Spectre HMBC du composé A**

Les protons méthyliques CH<sub>3</sub>-30 repérés à ( $\delta_H$ 1,02) sont identifiés sur la base de son couplage en HMBC (Figure II.14) avec le carbone C-8 ( $\delta_C$ 47,3), lui-même identifié du fait également de son couplage  $^3J_{C-H}$  avec le proton H-19 du système cyclopropanique et une autre corrélation avec le carbone C-7 ( $\delta_C$  33,7).

Les protons méthyliques Me-30 corrélient aussi avec deux carbones quaternaires à 44,5 et 45,6 ppm attribuables aux carbones C-13 et C-14, et le carbone méthylénique C-15 résonant à (45.4 ppm). Les deux protons H-15a (1,98 ppm) et H-15b (1,37 ppm) qui le substituent sont déterminés par HSQC.

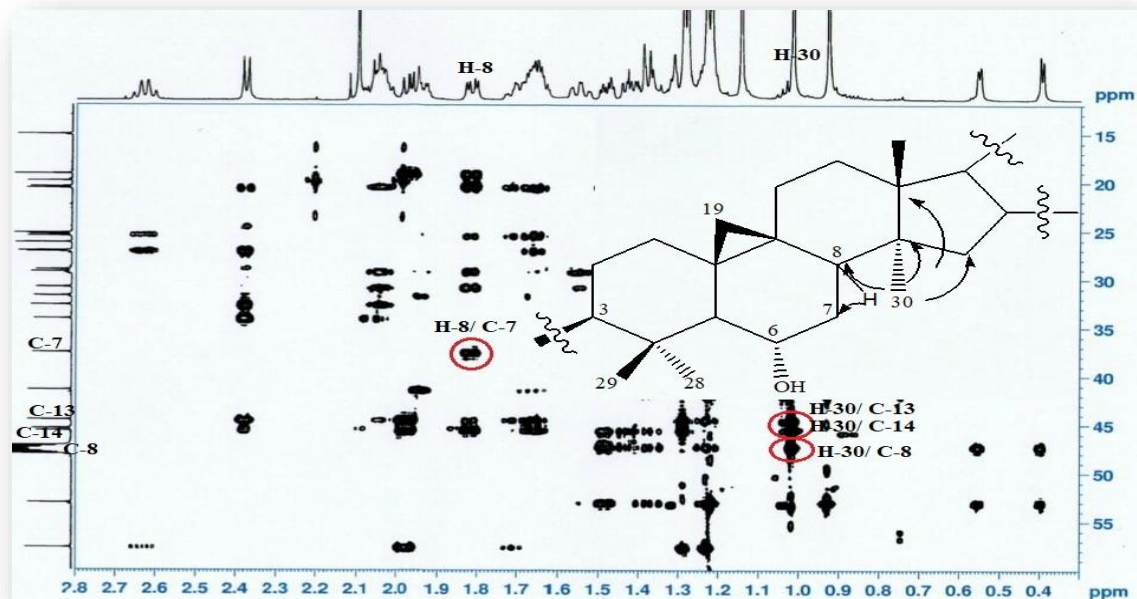


Figure II.14 : Spectre HMBC du composé A

Les protons méthyliques CH<sub>3</sub>-18 (1.29 ppm) sont identifiés au moyen des couplages longue distance observés sur le spectre HMBC (Figure II.15) avec les carbones C-13 (44,5 ppm), C-14 (45,6 ppm), C-17 (57,7 ppm) précédemment identifiés et le carbone C-12 (32,5 ppm).

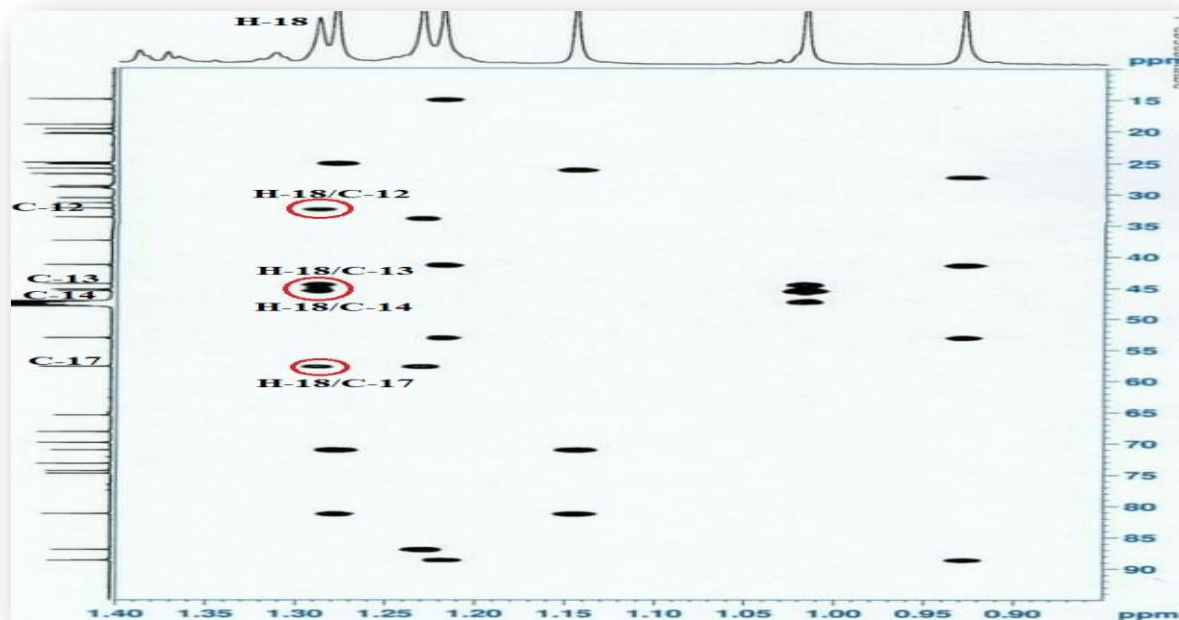


Figure II.15 : Spectre HMBC du composé A

L'expérience homonucléaire COSYH-H est la plus simple et la plus utilisée des expériences bidimensionnelles. Cette expérience permet donc de mettre en évidence les couplages ( $^2J$  et  $^3J$ ) et de les distinguer d'après l'orientation des taches de corrélation vis-à-vis de la diagonale [55,56].

A partir du proton H-15, l'analyse de spectre COSY (figure II.16) permet d'identifier le proton H-16 d'orientation  $\alpha$  résonant à 4,67 ppm (1H,  $q$ ,  $J = 7,8$  Hz) [26]. Cette valeur de déplacement chimique conjuguée à celle du carbone C-16 ( $\delta_C 73,3$ ) caractérisé par expérience HSQC. Cette valeur de déplacement chimique montre que ce dernier est porteur d'un groupement hydroxyle.

La même expérience montre également un couplage entre le proton H-16 et le proton H-17 repéré à 2,38 ppm (1H,  $d$ ,  $J = 7,8$  Hz)

. Sa multiplicité indique une substitution en C-17 du noyau cycloartane et sa valeur de constante de couplage de l'ordre de 7,8 Hz indique que ce proton H-17 est  $\alpha$  orienté [57,58]. Le carbone C-17 est repéré par HSQC à 57,5 ppm.

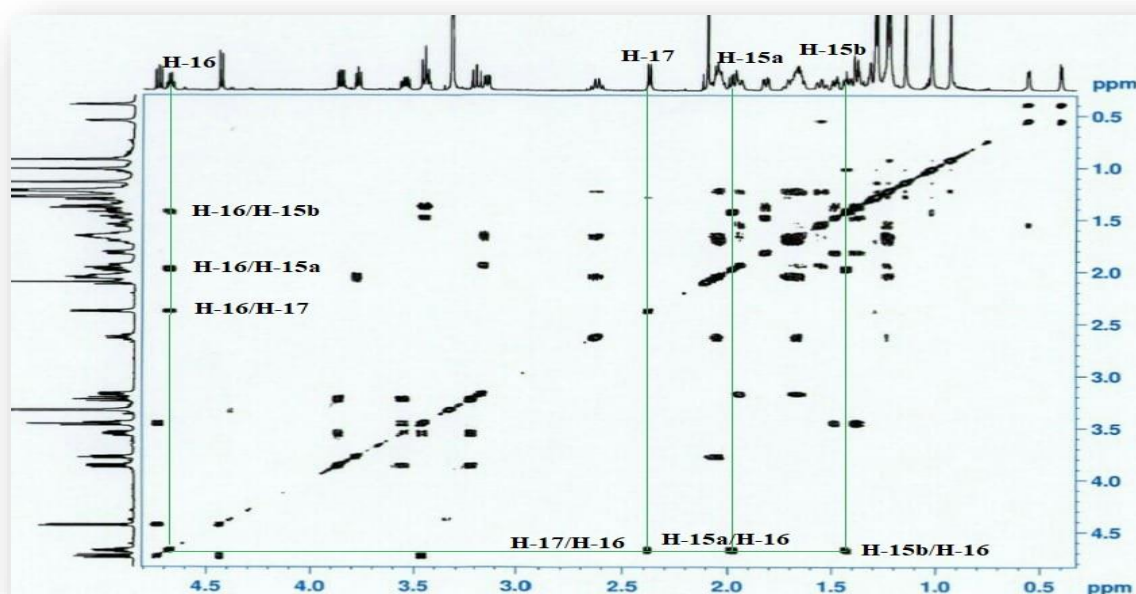
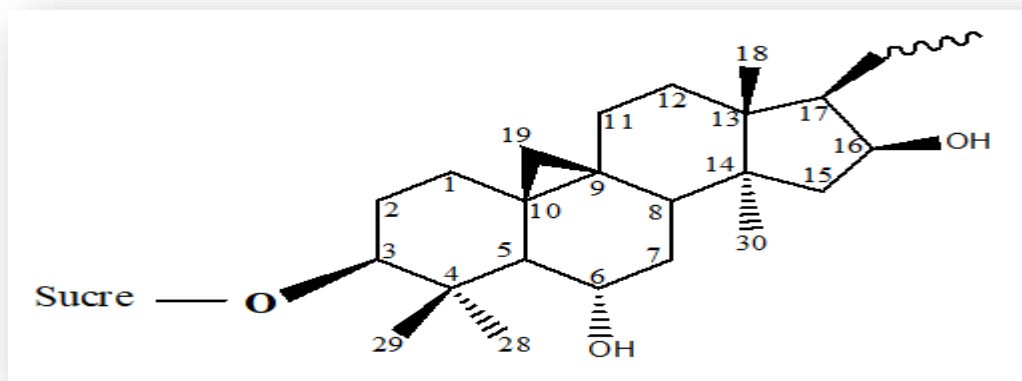


Figure II.16: Spectre COSY H-H du composé A

Toutes ces analyses spectroscopiques permettent d'attribuer la structure représentée par la figure ci-dessous qui constitue la génine de notre composé qui comporte une unité osidique.



. Figure II.17 : Structure globale du composé A

Il reste maintenant à identifier la nature du substituant en C-17 pour compléter la génine.

Sur les spectres HMBC (Figures II.18 et II.19) le proton H-17 corrèle avec :

- Les carbones CH<sub>3</sub>-18 ( $\delta_C$  20,6), C15 ( $\delta_C$  45,5), C-16 ( $\delta_C$  73,3) et C-13 ( $\delta_C$  44,5).
- Le carbone C-21 de groupement méthilyque à 27,1 ppm.
- Deux autres carbones appartenant au même groupement, l'un quaternaire fortement déblindé sortant à 86,9 ppm (C-20) donc oxydé et l'autre méthylénique à 34,1 ppm (C-22).

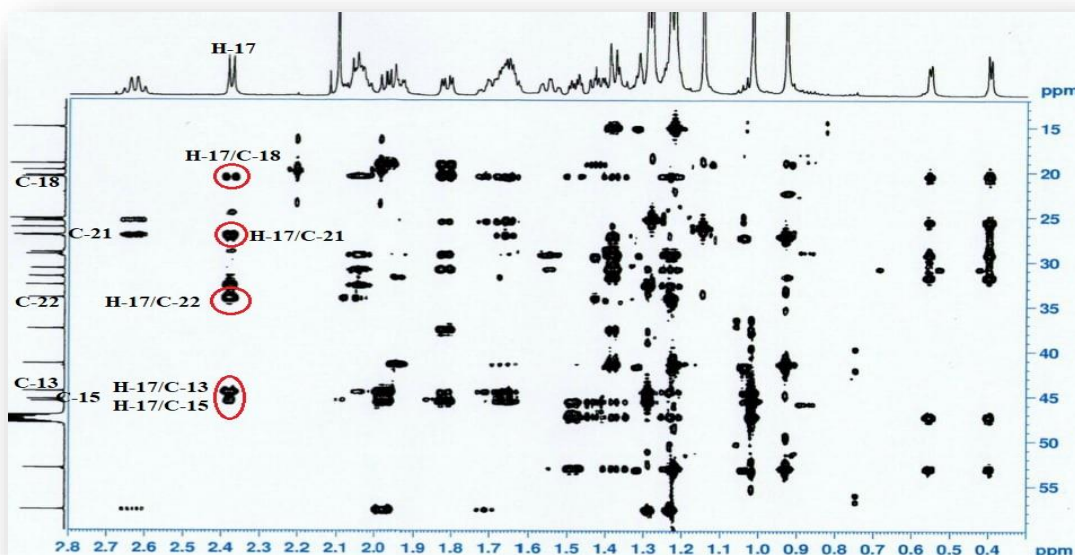


Figure II.18 : Spectre HMBC du composé A

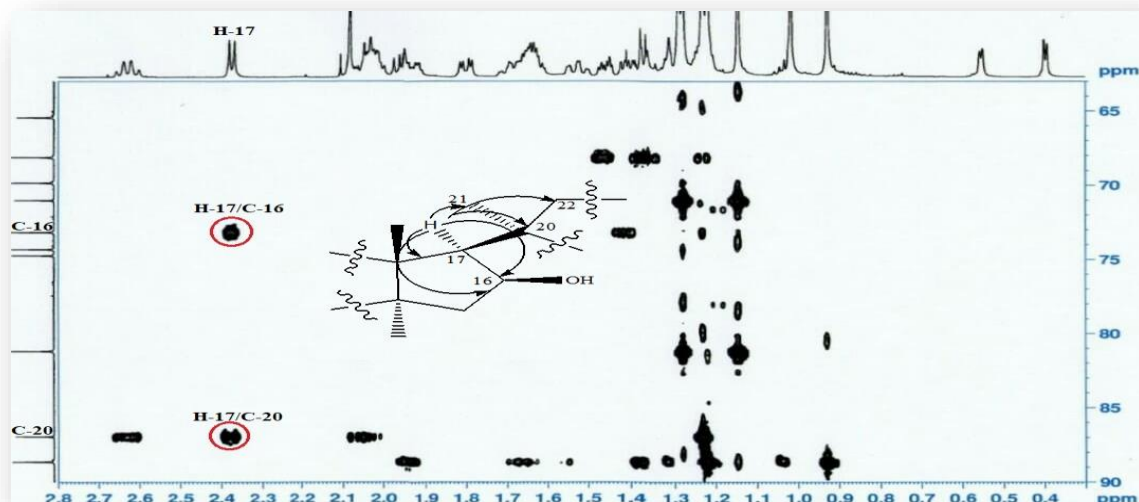


Figure II.19 : Spectre HMBC du composé A

A partir des protons H-22 identifiés par expérience HSQC, l'expérience COSY (Figure II.20) met en évidence un système de spin à travers les corrélations H-22 [H-22a (2,63 ppm, q,  $J = 10,7$  Hz), H-22b (1,65 ppm)], H-23 (2,04 ppm), H-24 (3,78 ppm, dd,  $J = 8,3 ; 6,0$  Hz). Cette valeur de déplacement chimique conjuguée à celle du carbone C-24 (81,2 ppm) caractérisé par expérience HSQC montre que ce dernier est un carbone oxyéthine. Partant du proton H-24 (3,78 ppm), l'expérience HMBC (Figure II.21) qui montre des corrélations longue distance avec les carbones de deux groupements méthyles CH<sub>3</sub>-26 ( $\delta_C$  25,2) et CH<sub>3</sub>-27 ( $\delta_C$  26,2) ainsi qu'un carbone quaternaire C-25 fortement déblindé repéré à 71,0 ppm comparable à celui d'un carbone porteur d'un OH libre.

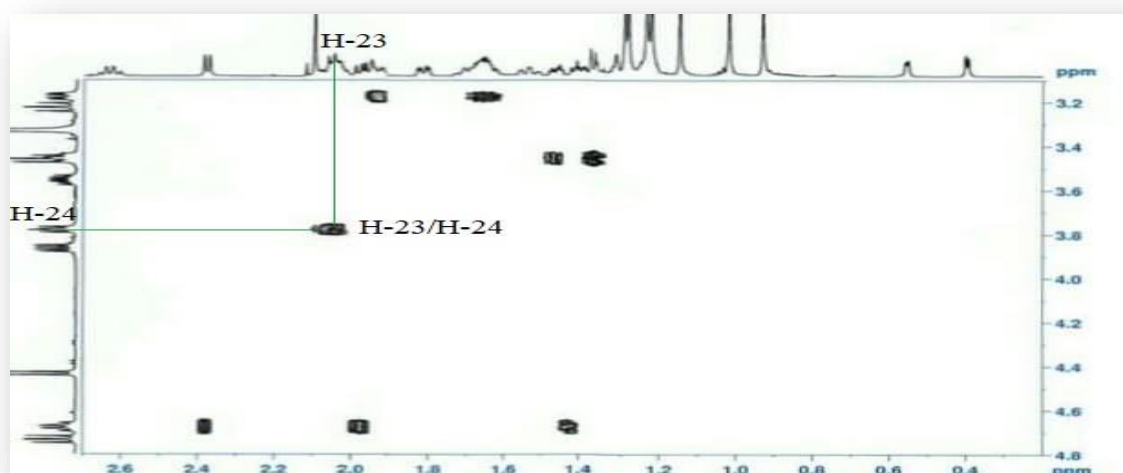
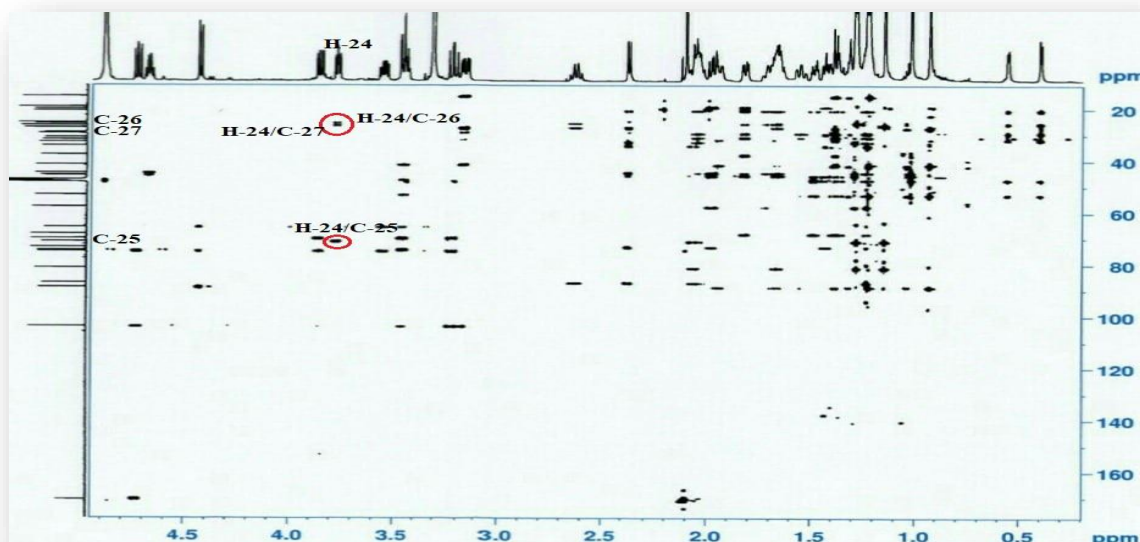
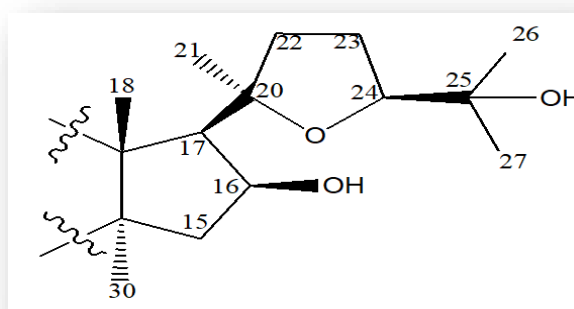


Figure II.20: Spectre COSY du composé A



**Figure II.21 : Spectre HMBC du composé A**

L'ensemble de ces données nous oriente vers la présence d'un noyau furane substitué et lié au carbone C-17. En effet, les déplacements chimiques des protons et carbones résulte de cette analyse sont conformes au données de la littérature [31].



**Figure II.22 : Noyau furane**

Le spectre ROESY permet de trouver la proximité spatiale de certaines parties de la molécule et, par conséquent, d'en déduire des informations sur sa structure tridimensionnelle.

La stéréochimie au niveau de la génine a été confirmée par l'analyse des corrélations observées sur le spectre ROESY (Figure II.23). Cette dernière montre les corrélations entre:

- Le proton H-19 du groupement CH<sub>2</sub> du noyau cyclopropane en position  $\beta$  [59–61], et les protons des groupements méthyles CH<sub>3</sub>-29 et CH<sub>3</sub>-18  $\beta$ -axial.
- Les protons du méthyle CH<sub>3</sub>-28 d'orientation  $\alpha$ -équatoriale et les protons H-3/H-5.

- Le proton H-6 et CH<sub>3</sub>-29β.

D'autres corrélations sont observées également entre les protons H-18β/H-8, H-30α/H-17, H-17/H-16, H-17/H-21 et H-21α/H-24.

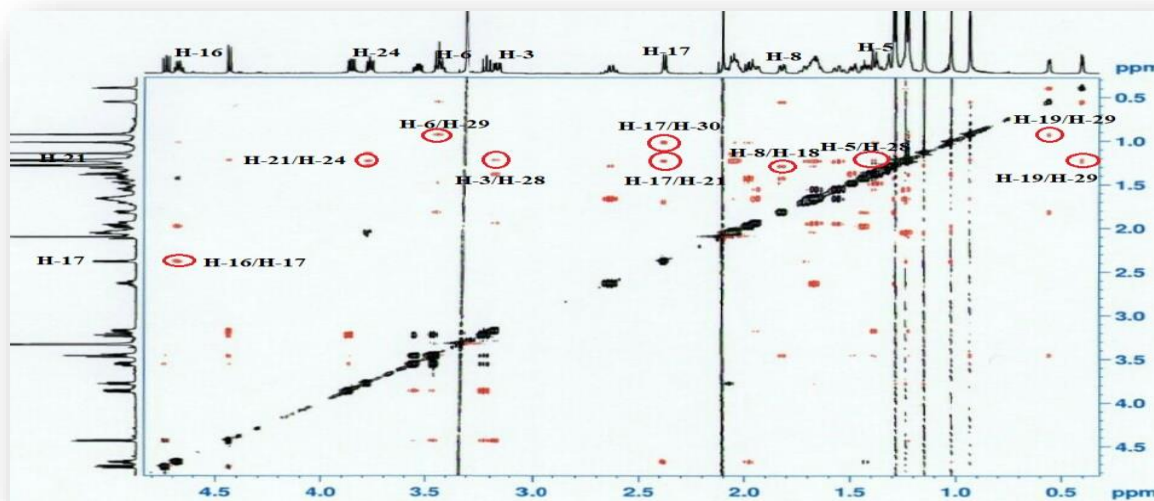


Figure II.23 : Spectre ROESY du composé A

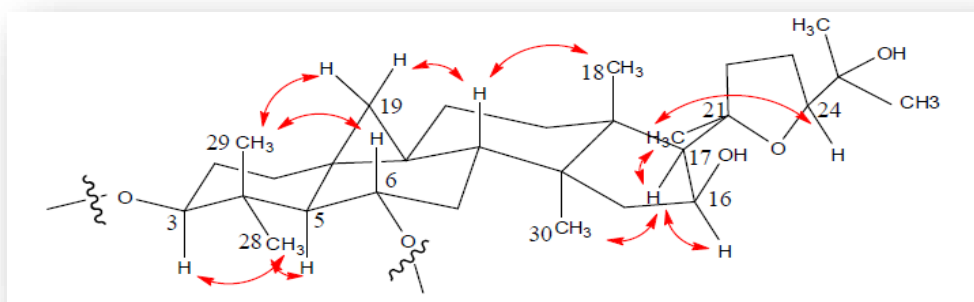


Figure II.24 : Principales Corrélations ROESY observées pour le composé A

### Identification de la partie osidique

L'unité osidique dont le signal du proton anomère résonne à 4,42 ppm (*d*,  $J = 7,9$  Hz) est identifiée par analyse du spectre COSY H-H (Figure II.25) qui montre clairement la présence d'un système de spins à six protons d'un pentose. En effet, il est visualisé les couplages suivants :

- H-1'/H-2' ( $\delta_{\text{H}} 4,73$ , *dd*,  $J = 9,3; 7,9$  Hz).
- H-2'/H-3' ( $\delta_{\text{H}} 3,46$ , *t*,  $J = 9,3$  Hz).
- H-3'/H-4' ( $\delta_{\text{H}} 3,56$ , *ddd*,  $J = 10,7; 9,3; 5,4$  Hz).

- H-4'/H-5b' ( $\delta_H$  3,23, *t*,  $J = 10,7$  Hz).
- H-5b'/H-5a' ( $\delta_H$  3,85, *dd*,  $J = 10, 7; 5, 4$  Hz).

Les grandes valeurs des constantes de couplage indiquent qu'il s'agit d'un xylose de configuration  $\beta$  ( $J_{1-2} = 7,9$  Hz).

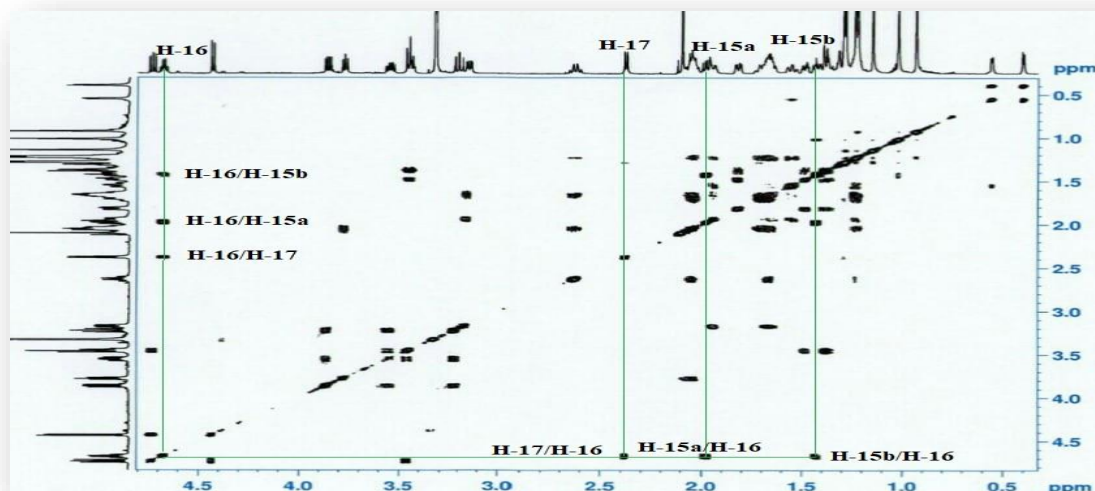


Figure II.25 : Spectre COSY H-H du  $\beta$ -D-xylose

Le déblindage important de l'ordre de +1,50 ppm du signal du proton H-2' ( $\delta_H$  4,73) du  $\beta$ -D-xylose indique que le groupement acétate est porté par le carbone C-2' de ce dernier. Ceci est confirmé par expérience HMBC qui montre une corrélation longue distance entre le carbonyle du groupement acétate ( $\delta_C$  170,4) et le proton H-2' du xylose (Figure II.26).

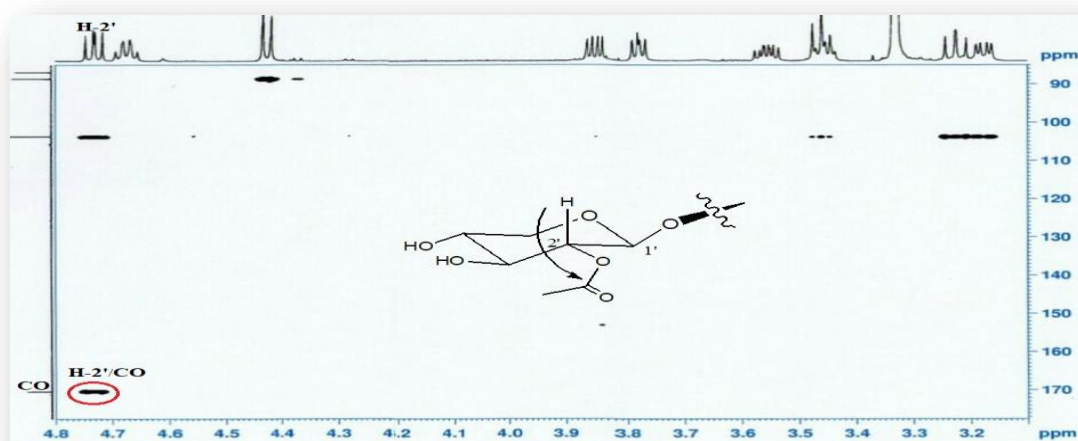


Figure II.26 : Spectre HMBC montrant le branchement de l'acétate sur l'unité osidique

Tous les carbones du xylose ont été caractérisés par analyse HSQC (Figure II.27).

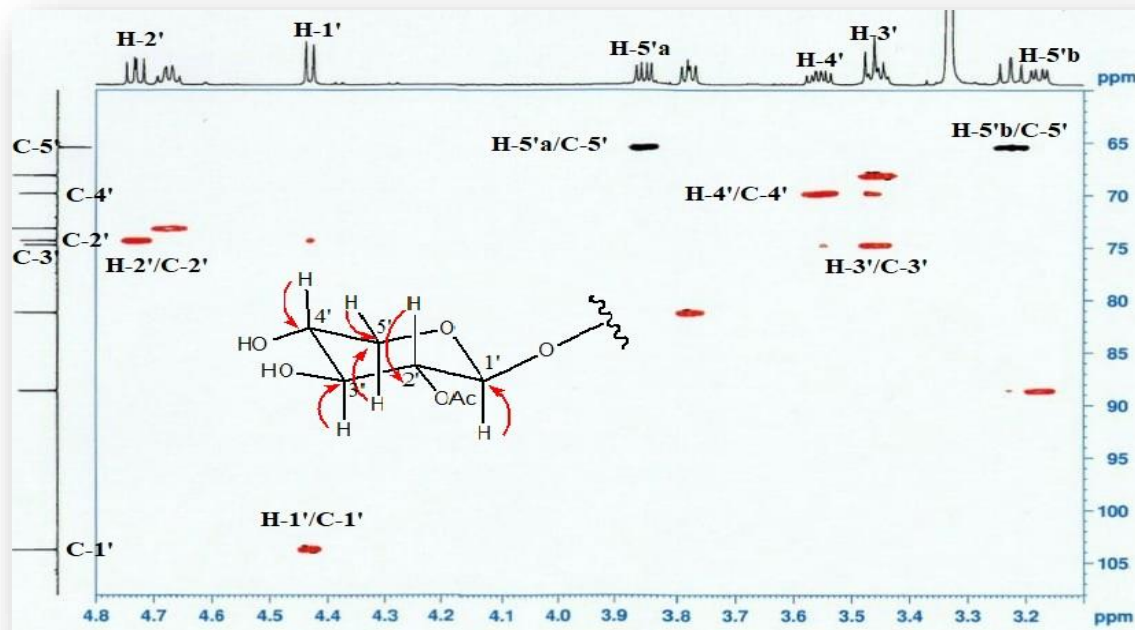


Figure II.27 : Spectre HSQC du  $\beta$ -D-xylose

Le point de branchement de ce xylose est confirmé par expérience HMBC (Figure II.28) qui montre une corrélation entre le proton anomère H-1' ( $\delta_H 4,43$ ) et le carbone C-3 de la génine (88,6 ppm).

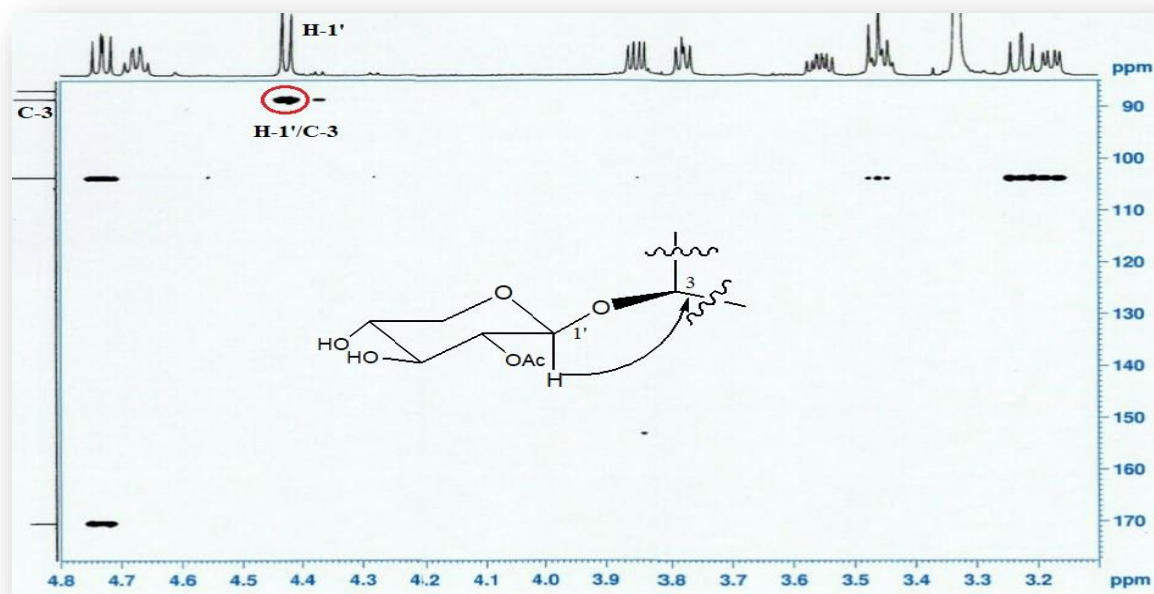
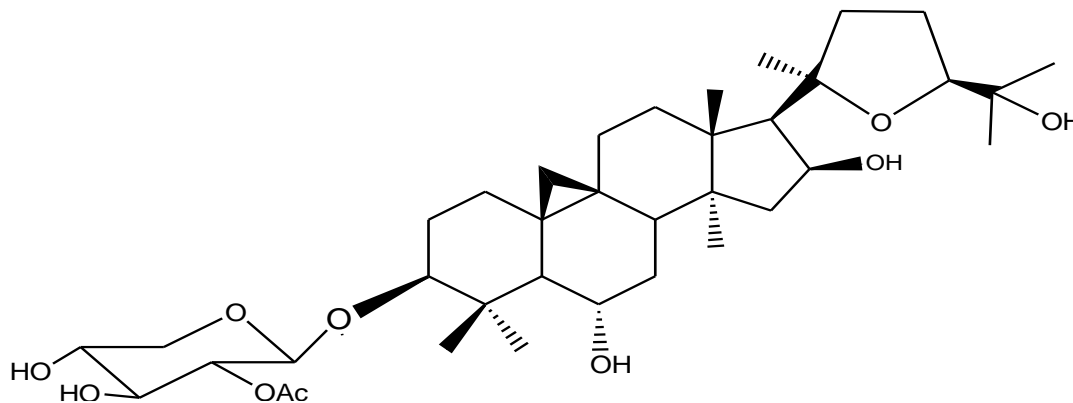


Figure II.28 : Spectre HMBC montrant le branchement du xylose sur la génine

En se basant sur ces données spectroscopiques, le composé A est identifié sans ambiguïté au: 3-O-(2'-O-acétyl)- $\beta$ -D-xylopyranosyl-20(R), 24(S)-epoxy-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,25-tetrahydroxycycloartane.



Ce composé connu et nommé cyclogalénoside A, a été antérieurement isolé d'une autre espèce du genre *Astragalus*: *A. galegiformis*[63].

Le tableau suivant reproduit tous les déplacements chimiques des protons et carbones du composé A.

**Tableau II.1: Déplacements chimiques RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé A dans CD<sub>3</sub>OD**

Position	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (m, J en Hz)
1	31,7	1,55-1,21 (m)
2	29,0	1,96-1,65 (m)
3	88,6	3,17(dd, 11,6; 4,5)
4	41,4	-
5	53,0	1,3 (m)
6	68,1	3,45 (td, 9,6; 4,1)
7	37,6	1,48-1,3 (m)
8	47,3	1,82 (dd, 12,3; 4,1)
9	20,4	-
10	29,2	-
11	25,4	2,04-1,22 (m)
12	32,5	1,68 (m)

13	44,5	-
14	45,6	-
15	45,5	1,98( <i>dd</i> , 12,9; 7,8) 1,37( <i>m</i> )
16	73,3	4,67 ( <i>q</i> , 7,8)
17	57,7	2,38 ( <i>d</i> , 7,8)
18	20,6	1,29 ( <i>s</i> )
19	30,8	0,60 ( <i>d</i> , 4,3) 0,28 ( <i>d</i> , 4,3)
20	86,9	-
21	27,1	1,23 ( <i>m</i> )
22	34,1	2,63 ( <i>q</i> , 10,7) 1,65( <i>m</i> )
23	25,5	2,04( <i>m</i> )
24	81,2	3,79 ( <i>dd</i> , 8,3; 6,0)
25	71,0	-
26	25,1	1,14 ( <i>s</i> )
27	26,2	1,28 ( <i>s</i> )
28	27,2	1,22 ( <i>s</i> )
29	15,0	0,92 ( <i>s</i> )
30	19,1	1,02 ( <i>s</i> )
1'	103,8	4,43 4,42 ( <i>d</i> , 7,9)
2'	74,3	4,73 ( <i>dd</i> , 9,3; 7,9)
3'	74,8	3,46 ( <i>t</i> , 9,3)
4'	69,9	3,56 ( <i>ddd</i> , 10,7; 9,3; 5,4)
5'	65,5	3,85 ( <i>dd</i> , 10,7; 5,4) 3,23 ( <i>t</i> , 10,7)
2'-CO	170,4	-
COCH <sub>3</sub>	19,8	2,1 ( <i>s</i> )

## *CHAPITRE III*

### *Partie expérimentale*

## III.1 Matériels et appareillage

### III.1.1 Récolte de la plante *A. Depressus*

La plante *Astragalus depressus*, a été récoltée en mai 2011 dans la région de khenchela. Elle a été identifiée par la Professeur Bachir Oudjehih (Département d'Agronomie Institut des Sciences Vétérinaires et Agronomiques), Université de Batna-1.

### III.1.2 Chimie extractive

#### III.1.2.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de purification.

Les analyses sur couche mince (CCM) sont effectuées en phase normale, avec des plaques en gel silice Kieselgel 60 F254 Merck, 250 µm déposées sur feuille d'aluminium (20 x 20 cm). La silice est utilisée préférentiellement comme phase stationnaire, ces plaques sont ensuite plongées dans des cuves conventionnelles en verre, renfermant une phase mobile, qui peut être communément un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée.

Les observations des plaques CCM sont faites sous lumière UV à 254 et 366 nm. Le révélateur utilisé est constitué principalement de mélange d'acides (acide sulfurique 25 % et acide acétique 25%) et d'eau (50 %). Ces plaques sont finalement chauffées avec un sèche-cheveux jusqu'à apparition de diverses tâches colorées.

#### III.1.2.2 Chromatographie liquide sous vide (VLC)

Technique rapide utilisée pour un fractionnement (séparation) grossière d'extraits végétaux ou pour éliminer les pigments de certaines fractions et a l'avantage de consommer moins de solvants que les méthodes de chromatographies classiques. La rapidité de cette méthode évite les phénomènes d'isomérisations observées souvent dans le cas de la chromatographie sur colonne. Des chromatographies avec phase inverse (une silice greffée Lichroprep RP-18 Merck 40-63 µm), sont préconisées pour les extraits polaires. Le rapport de la quantité de phase sur la masse de l'échantillon est d'un facteur 4 à 10. Les fractionnements ont été effectués dans des entonnoirs cylindriques avec verre fritté n°4.

### III.1.2.3 Chromatographie sur colonne ouverte (CC)

Pour les chromatographies sur colonnes ouvertes, plusieurs types de phases ont été mis en œuvre dans des colonnes en verre. La taille et le diamètre de la colonne sont choisis en fonction de la quantité d'échantillon à purifier et de la résolution souhaitée.

#### ➤ Chromatographie d'adsorption sur colonne

Pour les chromatographies d'adsorption, la phase stationnaire utilisée est le gel de silice 60 (230-400 Mesh). L'élution est réalisée par simple gravité. La quantité de silice utilisée est généralement 40 fois supérieure à la quantité d'échantillon déposée pour la silice normale et 10 fois pour le polyamide. Le choix des conditions d'élution, le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions sont effectués sur la base d'analyses par CCM.

#### ➤ Chromatographie d'exclusion

Les chromatographies d'exclusion sont réalisées sur gel de Sephadex LH-20 avec le chloroforme comme phase mobile. Les échantillons à séparer ont été introduits sous forme liquide après dissolution dans un volume d'éluant le plus petit possible. Les fractions recueillies sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

## III.1.3 Chimie structurale

### III.1.3.1 Spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et 2D (COSY, HMBC, ROESY, HSQC, TOCSY) ont été mesurés sur un appareil de type BRUKER Avance DRX-500. Les microprogrammes BRUKER et le logiciel de traitement des données (XWIN-NMR 2.6) sont appliqués, à des fréquences de 500 MHz (RMN  $^1\text{H}$ ) et 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). L'échantillon a été solubilisé dans le méthanol deutéré  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

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

### III.1.3.2 Spectrométrie de masse

Les spectres de masse des produits purs isolés ont été obtenus en ionisation douce électrospray (ESI) sur des spectromètres thermofinnigan MSQ et Micromasse Q-TOF respectivement; en  $m/z$ .

## III.2 Etude de l'espèce *Astragalus depressus*

### III.2.1 Extraction

800 g de racines de la plante *Astragalus depressus* sont mis à macérer dans un mélange Ethanol-Eau : 70/ 30 (2 x 8 litres) pendant 48 h à la température ambiante. Après filtration et évaporation du solvant, la phase aqueuse résultante subit une extraction liquide-liquide, d'abord par l'éther de pétrole(400 ml, 3 fois)puis l'acétate d'éthyle (400 ml, 3 fois) et enfin le *n*-butanol (400 ml, 3 fois).

L'évaporation à sec des phases organiques a permis de recueillir les masses suivantes : 2,5 g pour l'extrait étheropétrolique, 8 g pour l'extrait AcOEt et 40 g pour l'extrait butanolique. Les CCM en phase normale et inverse effectuées sur les trois extraits dans plusieurs systèmes de solvants montrent la richesse de l'extrait Acétate d'éthyle en produits.

### III.2.2 Fractionnement et purification de l'extrait acétate d'éthyle

7 g de l'extrait acétate d'éthyle ont été fractionnés par une chromatographie liquide sous vide (VLC), en utilisant comme phase stationnaire le gel de silice normale. L'élution est réalisée initialement par le chloroforme dont on augmente la polarité par addition de méthanol (100-0 à 70-30), puis de l'eau (70-30-0 à 50-50-10).

Après analyse des fractions obtenues par chromatographie sur couche mince en utilisant différents systèmes de solvants, les fractions présentant un profil similaire ou voisin. Ceci donné 10 fractions (F1- F10).Le fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle d'*Astragalus depressus* est présenté dans le tableau suivant (Tableau III.1).

**Tableau III.1: Fractionnement de l'extrait AcOEt**

Eluant colonne		Fractions	Eluant CCM	Poids en mg
CHCl <sub>3</sub> /MeOH	100	F1	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 9-1	201
	99-1			
	97- 3	F2		159
	95- 5	F3		499.5
	93- 7	F4		1296.8
	90 -10			
	80- 20			

	70 -30	F6	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 8-2	2385.8	
	70- 30				
CHCl <sub>3</sub> /MeOH /H <sub>2</sub> O	70- 30-1	F7		614.7	
	70- 30-3				
	70- 30-5	F8			303.3
	70- 30-7				
	60- 40-7	F9			208.4
	50- 50-1	F10			142.4

### III.2.2.1 Etude de la fraction F5

La fraction F5 de masse 1g est fractionnée sur une colonne de gel de silice en phase normale. L'éluion est effectuée par le mélange CHCl<sub>3</sub>/MeOH: 100-0 à 80-20. Ce Fractionnement a permis d'obtenir 132 fractions au total (Tableau III.2).

**Tableau III.2 : Fractionnement de la fraction F5**

Fraction	Eluant CHCl <sub>3</sub> /MeOH
1-18	100%-1%
19-24	99%-1%
25-66	97%-3%
67-90	95%-5%
91-114	93%-7%
115-126	100%-1%
127-132	80%-20%

Ces 132 fractions sont recueillies et rassemblées selon leur profil en CCM en phase normale pour donner 15 sous-fractions (Tableau III.3).

**Tableau III.3 : Rassemblement des fractions de F5 de l'extrait AcOEt**

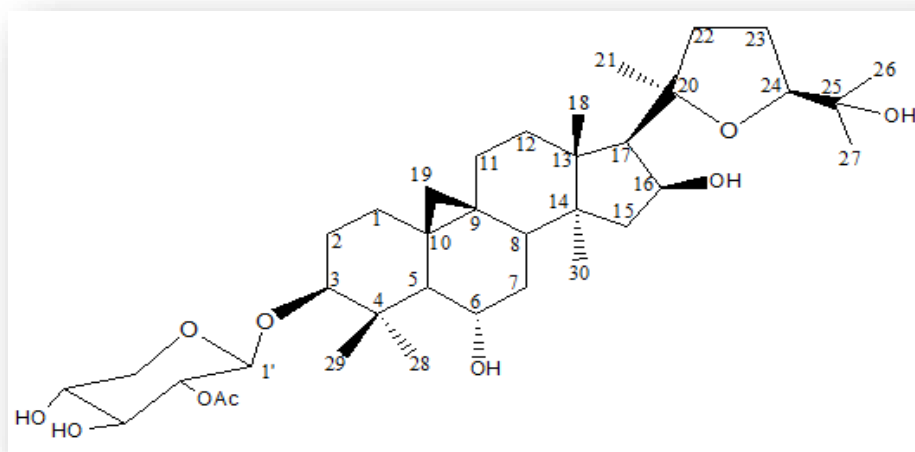
Fractions	Fractions rassemblées	Quantités (mg)
F5-1	5-6	9,3
F5-2	7-11	17,5

F5-3	12-27	21
F5-4	28-31	39
F5-5	32-37	56,6
F5-6	38-42	35,7
F5-7	43-49	40,4
F5-8	50-55	21,8
F5-9	56-67	28
F5-10	68-78	131
F5-11	79-90	114
F5-12	91-96	68,7
F5-13	97-108	145
F5-14	109-120	92
F5-15	121-132	115

La sous fraction F5-10 (68-78) de masse 130 mg est chromatographie sur colonne de sephadex LH-20 éluée par le chloroforme 100%, permet d'obtenir cinq autres sous fractions (F'5-10-1 à F'5-10-5).

La sous fraction F'5-10-3 (38 mg) est purifiée sur colonne de gel de silice normale. L'éluion est réalisée par un mélange de solvants  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  : 100-0 à 95-5. Cette ultime étape de purification conduit à isoler le composé **A** de masse 5,8 mg.

### III.3 Constantes physiques et données spectrales du composé A



Nom trivial	Cyclogaléginoside A
Formule brute	C <sub>37</sub> H <sub>56</sub> O <sub>10</sub>
Masse moléculaire	664 uma
Nom systématique	3-O-(2'-O-acétyl)-β-D-xylopyranosyl-20(R),24(S)-époxy-3β,6α,16β,25-tetrahydrocycloartane
Quantité de produit	5,8 mg
ESI-MS	Mode positif $m/z=687$ [M+Na] <sup>+</sup>
RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD)	1,21 ( <i>m</i> , H-1b), 1,55 ( <i>m</i> , H-1a), 1,65 ( <i>m</i> , H-2b), 1,96 ( <i>m</i> , H-2a), 3,17 ( <i>dd</i> , $J=11,6, 4,5$ Hz, H-3), 1,3 ( <i>m</i> , H-5), 3,45 ( <i>dt</i> , $J=9,6, 4,1$ Hz, H-6), 1,3 ( <i>m</i> , H-7b), 1,48 ( <i>m</i> , H-7a), 1,82 ( <i>dd</i> , $J=12,3, 4,1$ Hz, H-8), 1,22 ( <i>m</i> , H-11b), 2,04 ( <i>m</i> , H-11a), 1,68 ( <i>m</i> , H-12), 1,98 ( <i>dd</i> , $J=12,9, 7,8$ Hz, H-15b), 1,37 ( <i>m</i> , H-15a), 4,67 ( <i>q</i> , $J=7,8$ Hz, H-16), 2,38 ( <i>d</i> , $J=7,8$ Hz, H-17), 1,29 ( <i>s</i> , H-18), 0,28 ( <i>d</i> , $J=4,3$ Hz, H-19b), 0,60 ( <i>d</i> , $J=4,3$ Hz, H-19a), 1,23 ( <i>m</i> , H-21), 2,63 ( <i>q</i> , $J=10,7$ Hz, H-22b), 1,65 ( <i>m</i> , H-22a), 2,04 ( <i>m</i> , H-23), ), 3,79 ( <i>dd</i> , $J=8,3, 6, $ Hz, H-24), 1,14 ( <i>s</i> , H-26), 1,28 ( <i>s</i> , H-27), 1,22 ( <i>s</i> , H-28), 0,92 ( <i>s</i> , H-29), 1,02 ( <i>s</i> , H-30), ), 4,42 ( <i>d</i> , $J=7,9$ Hz, H-1'), 4,73 ( <i>dd</i> , $J=9,3, 7,9$ Hz, H-2'), 3,46 ( <i>t</i> , $J=9,3$ Hz, H-3'), 3,56 ( <i>ddd</i> , $J=10,7, 9,3, 5,4$ Hz, H-4'), 3,23 ( <i>t</i> , $J=10,7$ Hz, H-5b'), 3,55 ( <i>dd</i> , $J=10,7, 5,4$ Hz, H-5a'), 2,1( <i>s</i> , COCH <sub>3</sub> )
RMN <sup>13</sup> C (CD <sub>3</sub> OD)	31,7 (C1), 29,0 (C2), 88,6 (C3), 41,4 (C4), 53,0 (C5), 68,1 (C6), 37,6 (C7), 47,3 (C8), 20,4 (C9), 29,2 (C10), 25,4 (C11), 32,5 (C12), 44,5 (C13), 45,6 (C14), 45,5 (C15), 73,3 (C16), 57,7 (C17), 20,6 (C18), 30,8 (C19), 86,9 (C20), 27,1 (C21), 34,1 (C22), 25,5 (C23), 81,2 (C24), 71,0 (C25), 25,1 (C26), 26,2 (C27), 27,2 (C28), 15,0 (C29), 19,1 (C30), 103,8 (C1'), 74,3 (C2'), 74,8 (C3'), 69,9 (C4'), 69,5 (C5'), 170,4(2'-CO),19,8(COCH <sub>3</sub> )

## *Conclusion*

## Conclusion

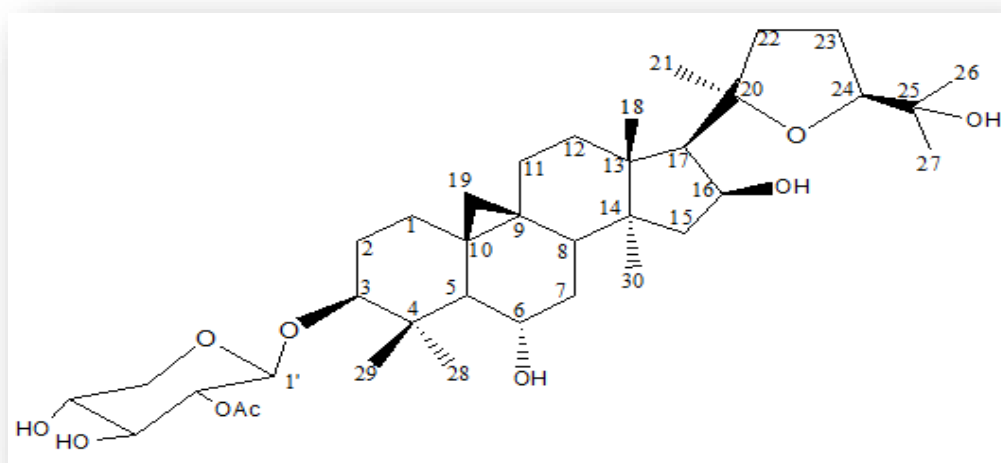
Ce travail présente une étude phytochimique réalisée sur l'espèce *Astragalus depressus*. Cette plante endémique à l'Algérie appartenant à la famille Fabaceae et poussant dans les prairies froides et humides.

L'investigation phytochimique réalisée sur l'extrait polaire (Acétate d'éthyle) des racines de l'espèce *Astragalus depressus*, a permis d'isoler et de caractériser une saponine triterpénique à squelette cycloartane.

La méthodologie de séparation, isolement et purification de ce composé a été faite à l'aide de la combinaison de différentes méthodes chromatographiques à savoir la chromatographie liquide sous vide (VLC), la chromatographie sur colonne de gel de silice normale, la chromatographie sur colonne de Sephadex LH-20.

L'élucidation structurale de ce composé a été faite au moyen de méthodes spectroscopiques impliquant la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN monodimensionnelle ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  *J*-modulé et DEPT) et les techniques de corrélations bidimensionnelles (COSYH-H, HSQC*J*-modulé, HMBC et ROESY) ainsi que la spectrométrie de masse ESI-MS.

La structure du composé est illustrée ci-dessous



**3-O-(2'-O-acétyl) -β-D-xylopyranosyl-20(R) ,24(S)-époxy-3β,6α,16β,25-tetrahydroxycycloartane**

## *Bibliographie*

*Bibliographie*

- [1] P. Quezel and S. Santa, “Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales,” 1963.
- [2] R. Algerienne, D. Et, F. D. E. S. Sciences, D. D. E. Microbiologie, E. T. Biochimie, and E. T. D. E. L. A. Vie, “Contribution à l ’ étude des statuts mycorhiziens de quelques plantes de Fabaceae de la région de M ’ sila ( Algérie ) Remerciements,” 2019.
- [3] M. F. Wojciechowski, M. Lavin, and M. J. Sanderson, “A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many wellsupported subclades within the family,” *Am. J. Bot.*, vol. 91, no. 11, pp. 1846–1862, 2004.
- [4] S. F. Zohra, “Les Bactéries Nodulant les Légumineuses (B.N.L): caractérisation des bactéries associées aux nodules de la Légumineuse Fourragère, *Hedysarum perrauderianum*,” p. 121, 2008.
- [5] M. Botineau, *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc, 2010.
- [6] B. Omar, “Etude des activites biologiques d ’ une plante medicinale.”
- [7] L. F. James, W. J. Hartley, and K. R. Van Kampen, “Syndromes of astragalus poisoning in livestock,” *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, vol. 178, no. 2, p. 146—150, 1981.
- [8] K. M. Watrous and J. H. Cane, “Breeding biology of the threadstalk milkvetch, *Astragalus filipes* (Fabaceae), with a review of the genus,” *Am. Midl. Nat.*, vol. 165, no. 2, pp. 225–240, 2011.
- [9] R. A. Scherson, R. Vidal, and M. J. Sanderson, “Phylogeny, biogeography, and rates of diversification of New World *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on South American radiations,” *Am. J. Bot.*, vol. 95, no. 8, pp. 1030–1039, 2008.
- [10] T. Chouana, “Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d’*Astragalus gombo bunge*.” Clermont Auvergne, 2017.
- [11] P. Ozenda, “Flore et végétation du Sahara.” In: CNRS (2ème Ed.), Paris, France., 1991.
- [12] A. I. Foudah, G. A. Soliman, R. F. Abdel-Rahman, Ö. Alankuş-Çalışkan, and H. Yusufoglu, “Antioxidant and hepatoprotective effects of *Astragalus echinops* and

- Astragalus logopodioides* ethanolic extracts on paracetamol-induced liver injury in rats,” *African J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, vol. 14, no. 5, pp. 31–40, 2017.
- [13] L. J. Rios and P. G. Waterman, “A Review of the Pharmacology and Toxicology of *Astragalus*. *Phytoterapy Research*, 11, 411-418.” 1991.
- [14] L. Maamria, H. Haba, C. Lavaud, D. Harakat, and M. Benkhaled, “An isoflavane and saponins from *Astragalus depressus* L.,” *J. Serbian Chem. Soc.*, vol. 80, no. 2, pp. 137–142, 2015.
- [15] P. Quezel, S. Santa, and O. Schotter, “Nouvelle flore de l’Algerie et des regions desertiques meridionales-v. 1-2,” 1962.
- [16] M. D. E. L. Enseignement, S. Et, F. Des, and S. Exactes, “Doctorat troisième cycle ( LMD ) INTITULÉ : Investigation phytochimique et biologique de l’espèce *Astragalus armatus* ssp . numidicus ( Coss . et Dur .) Maire . et Synthèse catalytique de nouveaux dérivés julolidines Par Amira LABED,” p. 284, 2016.
- [17] Z. Vejdělek and M. Protiva, “Potential antidepressants and tranquillizers: synthesis of some 9-(aminoalkoxy)-2, 3, 6, 7-tetrahydro-1H, 5H-benzo [ij] quinolizines and 1-(substituted amino)-3-(1-naphthoxy)-2-propanols,” *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.*, vol. 55, no. 5, pp. 1290–1296, 1990.
- [18] A. M. Moran, C. Delbecque, and A. M. Kelley, “Solvent Effects on Ground and Excited Electronic State Structures of the Push-Pull Chromophore Julolidinyl-n-N, N ‘-diethylthiobarbituric Acid,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 105, no. 45, pp. 10208–10219, 2001.
- [19] N. Barbero, C. Barolo, D. Marabello, R. Buscaino, G. Gervasio, and G. Viscardi, “Synthesis, optical characterization and crystal and molecular X-ray structure of a phenylazojulolidine derivative,” *Dye. Pigment.*, vol. 92, no. 3, pp. 1177–1183, 2012.
- [20] F. Des and S. D. E. La, “Métabolites secondaires de *Astragalus monspessulanus* L . et *Hedysarum carnosum* ( Fabaceae ),” 2018.
- [21] P. Iserin *et al.*, “Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème édition, 2001.” P.
- [22] L. F. James, K. V Van Kampen, and W. J. Hartley, “*Astragalus bisulcatus* cause of selenium or locoweed poisoning?,” *Vet. Hum. Toxicol.*, vol. 25, no. 2, pp. 86–89, 1983.

- [23] M. C. Williams and R. C. Barneby, "The occurrence of nitro-toxins in North American *Astragalus* (Fabaceae)," *Brittonia*, vol. 29, no. 3, pp. 310–326, 1977.
- [24] K. R. Van Kampen and L. F. James, "Pathology of Locoweed (*Astragalus lentiginosus*) Poisoning in Sheep; Sequential Development of Cytoplasmic Vacuolation in Tissues," *Pathol. Vet.*, vol. 7, no. 6, pp. 503–508, 1970.
- [25] L. F. James and J. L. Shupe, "Selenium accumulators. In current Veterinary Therapy, Food animal practice 2 (Edited By Howard JL)." Philadelphia, 1986.
- [26] E. Polat, O. Caliskan-Alankus, A. Perrone, S. Piacente, and E. Bedir, "Cycloartane-type glycosides from *Astragalus amblolepis*," *Phytochemistry*, vol. 70, no. 5, pp. 628–634, 2009.
- [27] J. Linnek *et al.*, "Cycloartane glycosides from three species of *Astragalus* (Fabaceae)," *Helv. Chim. Acta*, vol. 94, no. 2, pp. 230–237, 2011.
- [28] F. Fathiazad, M. K. Khosropanah, and A. Movafeghi, "Cycloartane-type glycosides from the roots of *Astragalus caspicus* bieb.," *Nat. Prod. Res.*, vol. 24, no. 11, pp. 1069–1078, 2010.
- [29] S. Jan *et al.*, "Three new cycloartane triterpenoids from *Astragalus bicuspis*," *Planta Med.*, vol. 77, no. 16, pp. 1829–1834, 2011.
- [30] D. Y. Lee *et al.*, "Anti-inflammatory cycloartane-type saponins of *astragalus membranaceus*," *Molecules*, vol. 18, no. 4, pp. 3725–3732, 2013.
- [31] N. Denizli *et al.*, "Cycloartane glycosides from *Astragalus plumosus* var. *krugianus* and evaluation of their antioxidant potential," *Fitoterapia*, vol. 92, pp. 211–218, 2014.
- [32] B. Djimtombaye and Ö. Alankus, "Unusual Secondary Metabolites from *Astragalus halicacabus* Lam . Leguminosae with ca . 3 , 000 different species , is represented by ca . 445 species , of which species ( *Radix Astragali* ) are well-known in traditional medicine as a remedy for animal bite ," vol. 10, pp. 1328–1334, 2013.
- [33] F. Karabey, I. A. Khan, and E. Bedir, "Cycloartane-type glycosides from *Astragalus schottianus*," *Phytochem. Lett.*, vol. 5, no. 2, pp. 320–324, 2012.

- [34] A. Perrone *et al.*, “Unusual cycloartane glycosides from *Astragalus eremophilus*,” *Tetrahedron*, vol. 64, no. 22, pp. 5061–5071, 2008.
- [35] I. Horo, E. Bedir, M. Masullo, S. Piacente, F. Özgökçe, and Ö. Alankuş-Çalışkan, “Saponins from *Astragalus hareftae* (NAB.) SIRJ.,” *Phytochemistry*, vol. 84, pp. 147–153, 2012.
- [36] W. Benchadi, H. Haba, C. Lavaud, D. Harakat, and M. Benkhaled, “Secondary metabolites of *Astragalus cruciatus* link. and their chemotaxonomic significance,” *Rec. Nat. Prod.*, vol. 7, no. 2, pp. 105–113, 2013.
- [37] D. Gülcemal *et al.*, “Oleanane glycosides from *Astragalus tauricolus*: Isolation and structural elucidation based on a preliminary liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry profiling,” *Phytochemistry*, vol. 86, pp. 184–194, 2013.
- [38] D. Yu, Y. Duan, Y. Bao, C. Wei, and L. An, “Isoflavonoids from *Astragalus mongholicus* protect PC12 cells from toxicity induced by L-glutamate,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 98, no. 1–2, pp. 89–94, 2005.
- [39] P. Montoro, H. Teyeb, M. Masullo, A. Mari, W. Douki, and S. Piacente, “LC-ESI-MS quali-quantitative determination of phenolic constituents in different parts of wild and cultivated *Astragalus gombiformis*,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 72, pp. 89–98, 2013.
- [40] J. Chen, Y. Li, L. Q. Yang, Y. Z. Li, Z. B. Nan, and K. Gao, “Biological activities of flavonoids from pathogenic-infected *Astragalus adsurgens*,” *Food Chem.*, vol. 131, no. 2, pp. 546–551, 2012.
- [41] S. G. Sparg, M. E. Light, and J. Van Staden, “Biological activities and distribution of plant saponins,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 94, no. 2–3, pp. 219–243, 2004.
- [42] W. G. Hopkins, “Physiologie végétale. 2 ème édition. de Boeck,” *Bruxelles*, 514p, 2003.
- [43] J. Bruneton, “Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales,” 1993.
- [44] C. Gauthier, “Glycosidation de triterpènes pentacycliques de type lupane et évaluation in vitro de leur potentiel anticancéreux /,” *Glycosidation triterpènes pentacycliques type lupane évaluation Vit. leur potentiel anticancéreux /*, no. May, 2006.

- [45] G. Beddos and K. Nkwokap, *Isolement et caractérisation des saponosides de trois plantes de la famille des araliaceae et dracaenaceae et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales* Guy Beddos Kougan Nkwokap To cite this version : HAL Id : tel-00841944 E5B89631. 2013.
- [46] K. K. Th, “Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l’ovin . Remerciements,” pp. 2010–2011, 2011.
- [47] B. Jean, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier, 2009.
- [48] M. Chwalek, “Hémisynthèse de saponosides à hédéragénine. Etude de l’influence de la chaîne osidique sur l’activité hémolytique.” Reims, 2004.
- [49] A. Alabdul Magid, “Étude chimique de deux Caryocar de Guyane et d’un Guioa de Nouvelle Calédonie.” Reims, 2005.
- [50] J. Bruneton, “Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. English,” 1999.
- [51] D. Thesis, “Research Collection,” 1951.
- [52] R. Algerienne, D. Et, U. D. E. M. M. D. E. Tizi-ouzou, F. D. E. S. Sciences, and D. D. E. Chimie, “Extraction et caractérisation d’un tensioactif naturel : les Saponines végétales Jury,” 2014.
- [53] Boutaghan.N Etude physicochimique de plantes médicinales Algériennes, “Naima BOUTAGHANE,” *Univ. Constantine 1*, p. 270, 2013.
- [54] N. Kambouche *et al.*, “Étude de l’effet antidiabétique des saponines extraites d’Anabasis articulata (Forssk) Moq, plante utilisée traditionnellement en Algérie,” *Phytotherapie*, vol. 7, no. 4, pp. 197–201, 2009.
- [55] E. Model, F. O. R. Nonlinear, and T. R. I. a X. I. a L. B. Of, “1. Introduction and objectives,” vol. 47, no. 0, pp. 305–315, 1978.
- [56] H. Gunther, “La Spectroscopie de RMN: principes de base, concepts et applications de la Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire du Proton et du Carbone 13 en Chimie.” Elsevier Masson, Paris, 1996.
- [57] G. Massiot, C. Lavaud, L. Le Men-Olivier, G. Van Binst, S. P. F. Miller, and H. M.

- Fales, "Structural elucidation of alfalfa root saponins by mass spectrometry and nuclear magnetic resonance analysis," *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, no. 12, pp. 3071–3079, 1988.
- [58] E. Polat, E. Bedir, A. Perrone, S. Piacente, and O. Alankus-Caliskan, "Triterpenoid saponins from *Astragalus wiedemannianus* Fischer," *Phytochemistry*, vol. 71, no. 5–6, pp. 658–662, 2010.
- [59] I. Çaliş, A. A. Dönmez, A. Perrone, C. Pizza, and S. Piacente, "Cycloartane glycosides from *Astragalus campylosema* Boiss. ssp. *campylosema*," *Phytochemistry*, vol. 69, no. 14, pp. 2634–2638, 2008.
- [60] K. W. Index-astrugafus, "Three cycloastragenol glucosides," *Flora*, pp. 585–587, 1997.
- [61] Y. Zhou, M. Hirotani, H. Rui, and T. Furuya, "Two triglycosidic triterpene astragalosides from hairy root cultures of *Astragalus membranaceus*," *Phytochemistry*, vol. 38, no. 6, pp. 1407–1410, 1995.
- [62] N. Tabanca, E. Bedir, O. Alankus-Caliskan, and I. A. Khan, "Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus gilvus* Boiss," *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 33, no. 10, pp. 1067–1070, 2005.
- [63] M. D. Alaniya, M. I. Isaev, M. B. Gorovits, N. D. Abdullaev, E. P. Kemertelidze, and N. K. Abubakirov, "Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XVI. Cyclogaleginosides A and B from *Astragalus galegiformis*," *Chem. Nat. Compd.*, vol. 20, no. 4, pp. 451–454, 1984.

## *Résumé*

## **Résumé**

Ce travail porte sur l'étude des constituants chimiques d'une plante nommée *Astragalus depressus* appartenant à la famille des Fabacées et qui pousse particulièrement sur les rochers des hautes montagnes algériennes.

Cette étude a permis l'isolement par les méthodes chromatographiques (VLC, CC, CCM) d'une saponine de nature triterpénique à squelette cycloartane. Ce dernier connu sous le nom de Cyclogaléginoside A.

Les structures moléculaires de composé isolé a été élucidée principalement par l'utilisation des techniques de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ - $J$ -modulé et DEPT) et RMN de corrélations 2D (COSY, HSQC  $J$ -modulé, HMBC, ROESY), la spectrométrie de masse ESI-MS et la comparaison avec les données de la littérature.

**Mots clés :** *Astragalus depressus*, Fabaceae, Saponines.

## *Abstract*

This work focuses on the study of the chemical constituents of a plant called *Astragalus depressus* belonging to the Fabaceae family and which grows particularly on the rocks of the high Algerian mountains.

This study allowed the isolation by chromatographic methods (VLC, TLC and CC) of a triterpenic saponin with a cycloartane skeleton named Cyclogaleginoside A.

The molecular structure of the compound isolated has been elucidated primarily by the use of the techniques of NMR 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  and DEPT) and 2D (COSY, HSQC, HMBC, ROESY), mass spectrometry ESI-MS and the comparison with literature data.

**Keywords:** *Astragalus depressus*, Fabaceae, Saponins.

## ملخص

يتمثل موضوع هذا البحث في دراسة المكونات الكيميائية لنبته تسمى *Astragalus depressus* تنتمي لعائلة Fabaceae والتي تنمو بشكل خاص على صخور الجبال العالية في الجزائر.

سمحت الدراسة بطرق الفصل اللوني (CC)، VLC، (TLC بعزل صابونين ذو طبيعة تريترينية بهيكل سيكلوأرتاني، هذا الأخير المعروف باسم: Cyclogaléginoside A).

تم تحديد الصيغة الكيميائية للمركب المعزول باستعمال تقنيات الرنين المغناطيسي النووي RMN 1D و RMN 2D ومطيافية الكتلة والمقارنة مع معطيات المنشورات العلمية.

**الكلمات المفتاحية:** *Astragalus depressus*، Fabaceae، الصابونينات.