

Contribution à l'étude chimique d'une Fabaceae : *Indigofera capitata* Kostchy

Contribution to the chemical study of Fabaceae: *Indigofera capitata* Kostchy

SIANARD F.D.¹, BANZOUZI J.T.², CHAMPY P.³, TCHISSAMBOU L.⁴

¹ Unité de recherche sur les plantes psychotropes CERVE, BP: 1249 Brazzaville, CONGO tel: (00242) 06 664 84 79 e-mail: droguedgrst@yahoo.fr

² Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN-CNRS), 1 av. de la Terrasse, 91198 Gif / Yvette (France)

³ Faculté de pharmacie de Chatenay Malabry, Université de Paris –sud 11 Orsay sud

⁴ Faculté des sciences Université Marien, Ngouabi, PB 69 Brazzaville, CONGO

RESUME

Le screening chimique effectué sur les fleurs de *Indigofera capitata* a montré la présence de : flavonoïde, tannins, terpènes, saponosides et quinones. Les tests d'identification des grandes familles de drogues se sont avérés négatifs. Deux flavonoïdes : la rutine (3,3',4', 5,7 pentahydroxy-2-phenylchromen-4-one) et le kaempferol -3-O-rutinoside ont été isolées des fleurs de *Indigofera capitata* Kostchy. Les structures ont été déterminées par UV, spectre de masse (LC/MS), RMN H1 et H13.

MOTS CLES :

Plante psychotrope –Phytochimie –*Indigofera capitata* –savoirs endogènes –pharmacopée

KEYS WORDS:

Psychotrop plant –phytochemistry - *Indigofera capitata*-endogenous knowledge –pharmacopoeia

ABSTRACT

The chemical screening made on the flowers of *Indigofera capitata* showed the presence of: flavonoïde, tannins, terpenes, saponosides and quinones. The tests of identification of the big families of drugs turned out negative. Flavonoïdes two: the rutine (3,3', 4', 5,7 pentahydroxy-2-phenylchromen-4-one) and the kaempferol-3-O-rutinoside were isolated the flowers of *Indigofera capitata* Kostchy. The structures were determined by UV, spectre of mass (LC / MS), RMN H1 and H13.

INTRODUCTION

Indigofera capitata est une espèce de la famille des Fabaceae qui compte parmi les plantes psychotropes à usages multiples couramment utilisées au Congo. Appelée « Onkaï » en langue téké et « diamba dia makanga » en langue soundi, cette espèce herbacée de savane est un genre qui contient de nombreuses espèces (plus de 1050 espèces) réparties à travers les zones tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique. Herbe annuelle, tiges dressées de 0,20-1m de haut, généralement fort ramifiées vers le sommet, éparsément pubérulentes ou glabres. Feuilles à stipules de 2-6cm de long; folioles 5-11, opposées, généralement étroitement elliptiques, oblancéolées ou linéaires, mucronées, de 4-20 mm de large, éparsément strigueses en dessus, généralement glabres en dessous. Glomérules corymbiformes-capituliformes au sommets des rameaux, de 1-4cm de large; bractées situées à l'intérieur du glomérule, peu distinctes, semblables en dimension et consistante aux lobes du calice ou 3-parties à segments semblables. Fleurs à calice de 4,5-7mm de long, fendu presque jusqu'à la base; segments étroits, fortement caudés-acuminés, éparsément, parfois densément villos-pubérulents ou subciliés à poils blancs; corolle orange ou pourpre, plus courte que le calice, égalant souvent à peine la moitié de sa longueur; étendard courtement mucroné, de 3-3,5mm de long. Gousse de 2-4,5mm de long et plus ou moins 1,5 mm de large, glabres, 1-2-séminées. (Sianard, 2010).

Un seul usage est très connu des *Indigofera*, c'est la production de teinture indigo. L'usage d'indigo extrait d'espèce d'*Indigofera* remonte à des temps très anciens. La plante et les

teintures indigo étaient déjà mentionnées dans les écrits sanscrits les plus anciens .La teinture bleue utilisée pour les textiles des momies égyptiennes peut dans certains cas , provenir d'un indigotier.L'indigo a été qualifié de « reine des teintures ».Aucune plante n'a tenu une place aussi importante dans autant de civilisations que les espèces d'*Indigofera* .(G.G.Ouedrago,1996)

A cause de cela , beaucoup de travaux ont été réalisés sur les différents *Indigofera* (Su et al.2006), (Li et al.2006) (Henriques ,2005) (Sharif, 2006) (Rhemman, 2005)

Tous ces *Indigofera* sont utilisés non seulement comme teinture , mais aussi comme plantes médicinales et quelquefois comme élément d'enrichissement du sol dans le cadre de la culture vivrière .On note entre autres que :

Indigofera tinctoria est signalée comme plante fourragère et son écorce est fébrifuge et hypotensive (Ouedrago, 1996) *Indigofera longracemosa* est utilisé comme engrais vert *Indigofera spicata* soigne les douleurs abdominales et les dermatoses *Indigofera anil* est utilisé en Amazonie contre l'ictère et l'épilepsie , il est employé comme diurétique , stomachique , purgatif, fébrifuge et antispasmodique et comme insecticide .L'ensemble de la plante enfi serait aussi un antidote du mercure et de l'arsenic (Le Cointe ,1934)

Au Congo , particulièrement chez les téké , l'instillation oculaire du jus d'*Indigofera capitata* constitue une épreuve judiciaire infligée aux femmes mariées pour juger de leur infidélité. (Bouquet ,1969)

Les autres *Indigofera* du Congo sont utilisés pour soigner les panaris et abcès (*I.dendroides*) , les fous (*I.congesta*) et comme collyre (*I.hirsuta*), (Adjanohoun et al.1988).

Les fleurs d'*Indigofera capitata* sont très prisées pour les effets d'euphorie, d'allégresse qu'elle procure aux populations autochtones pygmées. Malgré les ravages que cette plante cause dans les populations, sa composition chimique est très insuffisamment étudiée ce qui est un frein à la valorisation de cette plante, sa connaissance est fragmentaire. D'où l'importance de la présente étude. Elle a pour objectif de contribuer à l'amélioration de la connaissance de la composition chimique d'une plante psychotrope d'importance médico-sociale aux fins de sa valorisation.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des échantillons des fleurs d'*Indigofera capitata*, récolté aux alentours de Maya-Maya à Brazzaville. Nous avons utilisé l'échantillon référencé sous le numéro 47 de l'herbier national du CERVE pour la détermination botanique.

Screening chimique

Le screening chimique a été réalisé suivant les méthodes décrites par A.Bouquet . (1997)

La détermination des grandes familles de drogues est faite suivant les méthodes décrites par les Nations unies (1994) et le Programme des nations unies contre le trafic illicite (Pnuclid ,1996)

Extraction

La méthode d'extraction des extraits est classique dans des solvants usuels suivants l'ordre de polarité croissante. Ainsi nous avons effectué des macérations dans les solvants suivants éther de pétrole (ET) dichlorométhane (DCM) et éthanol (EtOH). La solubilisation de l'extrait éthanolique dans l'eau a conduit à 2 phases. La phase liquide est soumise à l'extraction liquide-liquide DCM/eau puis ACOET, en nous donnant une fraction qui sera lyophilisée. Cette fraction sera purifiée directement par HPLC.

Pour la détermination structurale nous avons utilisé HPLC /UV/Masse, les profils UV sont obtenus entre 190 et 392 nm, LC-HRMS nous avons utilisé en références : gramicidine S en mode positif (m/z 571,3608) –leucine enképhaline en mode négatif (m/z 554,2615), RMN les solvants ont été dissout dans des solvants deutérés CD3OD ou CDCl3.

RESULTATS

Screening chimique

Le screening chimique effectué a montré la présence de : flavonoïdes, tannins, saponosides, quinones, stérols et terpènes. A l'exception des alcaloïdes toutes les autres familles chimiques sont présentes.

Concernant, la détection des grandes familles de drogues dans leurs différents extraits, nous n'avons pas obtenu de résultats positifs. Cela est en accord avec le screening chimique qui a conduit à conclure en une absence d'alcaloïdes dans *Indigofera capitata*. Bien que son nom en langue Soundi signifie « chanvre indien des savanes » le test des cannabinoïdes est négatif.

. Extraction

L'extraction liquide/liquide a permis de concentrer les flavonoïdes (Vérification grâce au réactif de Neu). ;

Fractionnement par HPLC

Conditions analytiques avant le passage de la fraction en HPLC préparative

Un gradient d'élution linéaire d'acétonitrile (D) - eau (C) :0-100% sur 25 min ; C% : H2O + 0,1% HCOOH ; D% : CH₃CN+ 0,1% HCOOH. La détection est faite par UV à 190-360 nm.

Le tableau 1 rend compte des résultats obtenus. 12 fractions ont été obtenues. La pureté de chacune de ces fractions a été analysée en HPLC analytique couplée à la masse (LC/MS)

selon les conditions suivantes : colonne ; solvants : C = H₂O + 0.1% HCOOH - D = CH₃CN + 0.1% HCOOH. Deux composés ont pu être identifiés :

Composé 9 : Rutine (Formule : C₂₇H₃₀O₁₆ ; Masse : 610,5175 ; T = 125 °C) (Figure I)

Le composé 9 est une poudre jaune soluble dans le méthanol. Il réagit avec le réactif de Neu en affichant une fluorescence jaune sous UV à 365 nm ce qui laisse présager une structure de type flavonoïde confirmée par les deux maxima à 258 et 352 nm du spectre d'absorption UV, caractéristiques des bandes I et II d'un flavonol classique.

Le spectre en ESI⁻ montre un ion quasi-moléculaire [M-H]⁻ à m/z 609 qui confirme la masse atomique de 610. Le spectre en ESI⁺ confirme la masse atomique car il présente l'ion [M+Na]⁺ (m/z = 633). Le couplage MS/MS sur le produit et principalement la fragmentation de l'ion [M+Na]⁺, nous permet de visualiser les fragments à m/z 487 [M+H-146+Na]⁺ qui signale la perte d'un désoxyhexose et 325 [M+H-146-162+Na]⁺ et 324 [M+H-146-162+Na]⁺ • qui indique la perte d'un hexose. Toutes ces informations confirment que nous sommes en présence d'un produit déjà connue : Quercétine-3-O-diglycoside et la formule brute C₂₇H₃₀O₁₆.

Les signaux du spectre RMN 1H du composé 9 dans la région de protons aromatiques va dans l'hypothèse de la présence de la génine de type quercétine. De plus, nous observons les signaux de deux protons anomériques à δH 5.34 (d, J = 7.4 Hz) et 4,38 (d, J = 1,3 Hz) qui renforcent la présence de deux sucres. L'analyse du spectre RMN 13C montre les signaux caractéristiques de la génine quercétine: signal situé à δC 78.0 ppm du groupement carbonyle, neuf carbones quaternaires (huit entre 130 et 170 ppm et un à δC 104.6 ppm) et cinq CH aromatiques.

Parmi les signaux ne correspondant pas à la génine, nous observons les signaux de dix CH aliphatiques dont deux peuvent correspondre à des C anomériques (δC 101.9 et δC 101.4 ppm), un CH₂ (δC 67.6 ppm) et un méthyle (δC 18.4 ppm). Le spectre HMBC du composé 1 indique que ces carbones corrèlent bien avec les protons anomériques à δH 4,38 et 5.34 ppm. Tout ceci renforce l'hypothèse de la présence de deux hexoses dans le composé X.

L'étude du spectre HSQC nous permet également de déduire les déplacements chimiques de protons des sucres. Les déplacements chimiques en RMN13C dans la région des sucres sont caractéristiques de :

- une glucopyranose (C-2'', C-3'', C-4'', C-5'' et C-6'' respectivement à δC 74.7, 77.1, 70.7, 76.6 et 67.6 ppm) dont on note la configuration β grâce à la constante de couplage typique de son proton anomérique ($J=7.4$ Hz)

- un rhamnopyranose (C-2''', C-3''', C-4''', C-5''' et C-6''' respectivement à δC 71.0, 71.2, 72.5, 68.9 et 18.4 ppm) en configuration α (constante de couplage du proton anomérique H-1''' $J = 1.3$ Hz).

L'ensemble de ces données confirme bien qu'il s'agit de la rutine, souvent isolé dans plusieurs plantes et déjà isolé dans les Indigofera.

Composé 7 : Kaempferol-3-O-rutinoside (Formule : $C_{27}H_{30}O_{15}$; Masse : 594,585) (Figure II)

Le composé 7 est également une poudre jaune soluble dans le méthanol. Ce composé réagit avec le réactif de Neu avec une fluorescence verte sous UV à 365 nm qui laisse penser à une structure de type flavonoïde. Les bandes d'absorption caractéristiques à 258 et 353 sur le spectre UV confirment bien qu'il s'agit d'un flavonoïde.

Le spectre ESI- montre un ion à m/z 593 [M-H]- pour le composé 2. Sur le spectre du couplage MS/MS de l'ion à m/z 593 en ESI- montre également les ions de fragmentation de l'ion [M-H]- : m/z 284, m/z 255 ; m/z 227. La fragmentation en ESI+ de $[M+Na]^+$ de F fait apparaître également les ions à m/z 472, à m/z 309 et à m/z 310 indiquant la perte successive d'un désoxyhexose (-146 u) puis d'un hexose (-146-162 u).

La RMN1H de la zone afférentes aux protons de la génine a permis de visualiser la présence OH en C-5 et C-7 sur le cycle A, via le couplage méta des protons H-6 et H-8 du cycle A à δH 6.20 et 6.41 ppm. La substitution du noyau B est mise en évidence par la présence des doublets couplant en position ortho à δH 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz) et 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz) pour H-2' et H-6' et δH 6.88 (d, $J = 8.7$ Hz) et 6.88 (d, $J = 8.7$ Hz) pour H-3' et H-5'. Ce système 2H AA', 2H XX' sur le cycle B nous permet de placer le groupement hydroxyle en position 4' sur le cycle B. Les hypothèses formulées grâce à la spectrométrie quant à la présence de la génine kaempférol sont ici alors confirmées.

Ici aussi comme pour le composé 9 nous observons les deux protons anomériques de sucres à δH 5.30 et 4.38 ppm. Sur le spectre de RMN13C du composé 2, nous observons la présence de 27 signaux similaires à ceux du composé 1 à sauf certains carbones en liaison avec la

génine. Les deux composés 1 et 2 diffèrent par leurs génines et les masses le confirment. Les déplacements chimiques des signaux attribuables au cycle B de la génine quercétine (composé 1) permettent d'indiquer la présence d'un carbone quaternaire aromatique (δC 121.5 ppm), d'un carbone quaternaire aromatique portant un groupement hydroxyle (δC 160.6 ppm) et de quatre CH aromatiques deux à deux superposés à δC 131.5 et 115.8 ppm. Les signaux équivalents confirment que le groupement OH se situe en position 4'. Nous avons comparé les données RMN (1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC) du composé 2 avec celles du composé 1 et celles-ci ne diffèrent qu'au niveau des signaux du cycle B. Le reste des signaux principalement ceux de la zone des sucres étant en tous points identiques. Le composé 2 est donc le kaempférol-3-O- β -rutinoside. Ce composé a également déjà été isolé dans les *Indigofera*.

DISCUSSION

En comparant ces résultats avec les études faites sur les autres *Indigofera*, nous constatons que :

Indigofera microcarpa et *Indigofera capitata* ont des résultats identiques (De lima et al.2003) ;

La présence de flavonoïdes est citée dans plusieurs *Indigofera* dont *I. herantha*, *I. hirsuta*, *I. suffruticosa*, *I. mengtzeana*, *I. tinctoria*, *I. kirilowi* ainsi que *I. capitata* (Kamal et al.1987 ; Li et al., 2006 ; Rehman et al., 2005 ; Li et al., 2004 ; Aziz-ur-Rehman et al.,2004 ; Kamal et al., 1993 ; Dzhuraev et al., 1986 ; Thusoo et al., 1982, Kamal et al.1987, Garcez et al., 1989)

Dans certains *Indigofera* on note la présence d'alcaloïdes, ce qui n'est pas le cas dans *I.capitata*²³ (Deng ,1986) ;

Les stérols et terpènes se retrouvent dans la majorité des *Indigofera* (présence de la bêta-sitostérol), (Sharif et al., 2006 ; Bhale et al., 1979 ; Dominguez et al.,1978)

Les tannins sont cités dans *I. hirsuta*, *I. suffruticosa*, *I. microcarpa*, *I. sp*, *I. tinctoria* et aussi *I. capitata* (Narender et al., 2006 ; Wu et al., 1999 ; Vu, 1999 ; Kamal et al., 1993 ; Dzhuraev et al., 1986)

Sur les 12 fractions isolées, 7 contiennent des composés purs (Tableau 2). Au regard des temps de rétention des produits, de la spectrométrie de masse et des spectres UV, il semble possible que certains de nos produits purs soient identiques ou soient des isomères.

Les deux composés isolés la rutine et le kaempferol -3-O-rutinoside se retrouvent bel et bien dans les autres *Indigofera*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail est une contribution scientifique qui améliore la connaissance de la composition chimique d'une plante psychotrope *Indigofera capitata* de la flore congolaise. Les résultats obtenus, montrent la présence de deux flavonoïdes : la rutine (3,3',4', 5,7 pentahydroxy-2-phenylchromen-4-one) et le kaempferol -3-O-rutinoside dans les fleurs de *Indigofera capitata*. La rutine est utilisée comme dépresseur du SNC et le kaempferol 3-O-rutinoside comme protecteur du SNC. Ces deux composés se retrouvent aussi dans *Indigofera kirilowi*. Cette étude a permis de confirmer le savoir endogène des populations autochtones pygmées : Les fleurs d'*Indigofera capitata* ont bien une action sur le SNC.

Remerciements

Les remerciements, aux populations des peuples autochtones Pygmées : Babinga (Niari), Mikaya (Sangha), ainsi que les tradi-thérapeutes du service de la médecine traditionnelle du Ministère de la Santé.

Mes remerciements vont aussi aux : personnel du laboratoire de pharmacognosie et des substances naturelles de la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry, personnel du CNRS/ICSN de Gif /Yvette, techniciens du laboratoire de Phytochimie du CERVE et personnel du CERVE.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sianard F.D.2010, inventaire des plantes psychotropes du Congo, des recettes de désintoxication et études chimique et toxicologique de *Indigofera capitata* Kotschy et *Tetracarpidium conophorum* (Mull-Arg.) Hutch & Dalziel. *Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat*. Université Marien Ngouabi.144p.
- Ouedrago.1996.Les espèces agrosylvopastorales de Boromenga (Provence du Bazèga).Dynamique, potentialités et perspectives *Mémoire de fin d'étude (I.D.R.)* Bobo-Dioulasso.106p.
- Su Y.F., Yang Y., Fan W., Lu M., Guo Z.J., Lu J.X..2006. Chemical constituents of *Indigofera kirilowii* stems and leaves. *Min; Zhongcaoyao*, 37(12), 1775-1777.
- Li L., He H., Hao X.. 2006. Study on chemical components in the stems of *Indigofera mengtzeana* Craib. *Zhongcaoyao*, 37(5), 665-666.
- Henriques B.M.A.Sarangdhar V.C..2005.Process for manufacture of indigo from indigo plants.(secretary Ministry of Environment and Forest, India)*India Pat.Appl.*20p.
- Sharif A., Malik A., Riaz N., Ahmed E., Yawer M.A., N. Afza.2006. Phytochemical investigations on *Indigofera oblongifolia*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 28(1), 101-104.
- Rehman, A. Malik, S. Mehmood, E. Jahan, H. Ahmad.2005. Phytochemical studies on *Indigofera heterantha*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 27(4), 440-442.
- Le Cointe P..1934.Amazônia Brasileira vol.3livrairie classica.Belem do Para.
- Bouquet A.1969.Féticheurs et médecine traditionnelles du Congo-Brazzaville.mémoires ORSTOM.Paris n°36.
- Adjanooun E.J.1988.Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Congo.ACCT.Paris.
- Bouquet A. 1972 .Plantes médicinales du Congo-Brazzaville : *uvариopsis* , *Pauridiantha* , *Diospyros*.*Travaux et documents de l'orstom*.Paris n°13.
- United Nations International Drug Control Programme.Vienna. 1994.Rapid testing methods of drugs of abuse.*United Nations*.New-York.

PNUCID.Vienne.1996.Méthodes rapides d'analyses des drogues donnant lieu à des abus.Nations Unies.New-York.

De Lima A.K., Cavalcanti de Amorim E.L., Mendonca de Aquino T., Lima C.S.A., Magalhaes de Mendonca R., Higino J.S., De Albuquerque U.P.2003. Pharmacognostic study of *Indigofera microcarpa* Desv. (Fabaceae). *Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas*, 39(4), 373-379.

Rehman A., Malik A., Mehmood S., Jahan E.,Ahmad H.2005. Phytochemical studies on *Indigofera hetrantha*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 27(4), 440-442.

Li C., C. U. M. I. 2004Texas Christian. Phytochemical study of *Psoralea glandulosa*, *Cestrum parqui* and *Indigofera heterantha*; rearrangement mechanism in oxidation of thiophene aminotriazinone; synthesis of amino acid and peptide analogues of chicoric acid as HIV-1 integrase inhibitors. Order No. DA3160184. , 276 pp.

Aziz-ur-Rehman, Malik A.,Riaz N.,Ahmad H.,Nawaz S.A., Choudhary, Muhammad I.2004. Lipoxygenase inhibiting flavonoids from *Indigofera hetrantha*. *Heterocycles* , 63(2), 359-366

Kamal R.,Mangla M.1993. In vivo and in vitro investigations on rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against the larvae of *Anopheles stephensi* and adults of *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Biosciences* (Bangalore, India), 18(1), 93-101.

Dzhuraev K.S., N. Anikina N.B., Kazakova N.M.1986. Chemical characterization of *Indigofera tinctoria* L. grown under irrigation in Tadzhikistan. *Izvestiya Akademii Nauk Tadzhikskoi SSR, Otdelenie Biologicheskikh Nauk*, (3), 62-4.

Thusoo A,Raina N., Ahmed S.R.1982. Flavonoids and other constituents of *Indigofera hetrantha*. *Journal of the Indian Chemical Society*, 59(8), 1007-8.

Kama R., M. Mangla M.1990. Flavonoids from *Indigofera tinctoria* L. *in vivo* and *in vitro*. *Herba Polonica*, 36(1-2), 3-7.

Garcez W.S.,Garcez F.R.,Honda N.K.,Da SilvaA.J.R.1989. A nitropropanoyl-glucopyranoside from *Indigofera suffruticosa*. *Phytochemistry* (1989), 28(4), 1251-2.

Kamal R.,Mangla M.1987. Rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against *Cyclops*, the carrier of dracunculiasis. *Pharmazie* , 42(5), 356. CODEN: PHARAT ISSN: 0031-7144.

Bharal S.,Rashid A.1979.Regeneration of plants from tissue cultures of the legume *Indigofera eneaphylla* Linn.*Zeitschrift fuer Pflanzphysiologie* ,92(5),443-7.

Dominguez X.A.,Martinez C.,Calera A.,Dominguez A.Jr.,Hinojosa M.,Zamudio A.,Watson W.H.,Zabel V.1978.Mexicana medicinal plants.XXXI.Chemical components from « jiquelite » *Indigofera suffruticosa*,Mill.*Planta Medica* (1978),34 (2),172-5.

Narender T., Khaliq T., Puri A., Chander R. 2006 Antidyslipidemic activity of furano-flavonoids isolated from *Indigofera tinctoria*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 16(13), 3411-3414.

Wu E., Komolpis K., Wang H.Y. 1999 Chemical extraction of indigo from *Indigofera tinctoria* while attaining biological integrity. *Biotechnology Techniques*. 13(8), 567-569

Vu T. 1999. Extraction of glucoside (indicant) from Vietnamese *Indigofera* for indigo blue dyes. *Hoa Hoc Va Cong Nghiep Hoa Chat*. (2), 28-32

Dzhuraev K.S., Anikina N.B., Kazakova N.M. 1986. Chemical characterization of *Indigofera tinctoria* L. grown under irrigation in Tadzhikistan. *Izvestiya Akademii Nauk Tadzhikskoi SSR, Otdelenie Biologicheskikh Nauk*, (3), 62-4.

Code produit	HPLC préparative Tr (min)	Masse (mg)
1	-	1
2	-	2
3	-	1
4	-	1
5	-	2
6	-	1,6
7	-	1,2
8	-	2,01
9	-	1,3
10	-	2,3
11	-	1,4
12	-	2,5

Tableau 1 : Résultat du fractionnement d'IC3B'3 par HLPC préparative (F.D.Sianard)

Code produit	Pureté (observation en DEDL)	Produits détectés	Poids moléculaire
1	mélange	-	-
2	2 composés	P1 : Tr = 9,42 (très majoritaire) P2 : Tr = 9,68 (minoritaire)	M+ = 565,3 M+ = 449,2
3	1 composé pur	P3 : Tr = 9,69	448,2 (M+ = 449,2 ; M- = 447,2)
4	2 composés	P4 : Tr = 9,70 P5 : Tr = 10,04	564,3 (M+ = 565,3 ; M- = 563,3) 448,2 (M+ = 449,2 ; M- = 447,2)
5	2 composés	P6 : Tr = 9,70 (minoritaire) P7 : Tr = 10,00 (majoritaire)	564,2 (M+ = 565,2 ; M- = 563,2) 448,2 (M+ = 449,2 ; M- = 447,2)
6	1 composé pur	P8 : Tr = 9,66	564,2 (M+ = 565,2 ; M- = 563,2)
7	1 composé pur	P9 : Tr = 9,60	M+ = 595,1
8	1 composé pur	P10 : Tr = 10,1	M+ = 579,3
9	1 composé pur	P11 : Tr = 10,6	M+ = 433,2 (?)
10	1 composé pur	P12 : Tr = 10,45	594,3 (M+ = 595,3 ; M- = 593,3)
11	2 composés	P13 : Tr = 10,36 (majoritaire) P14 : Tr = 10,92 (minoritaire)	578,2 (M+ = 579,2 ; M- = 577,2) 448,2 (M+ = 449,2 ; M- = 447,2)
12	1 composé pur	P15 : Tr = 10,36	578,3 (M+ = 579,3 ; M- = 577,3)

Tableau 2 : HPLC analytique des sous fractions d'IC3B'3 : composés purs détectés (F.D.Sianard)

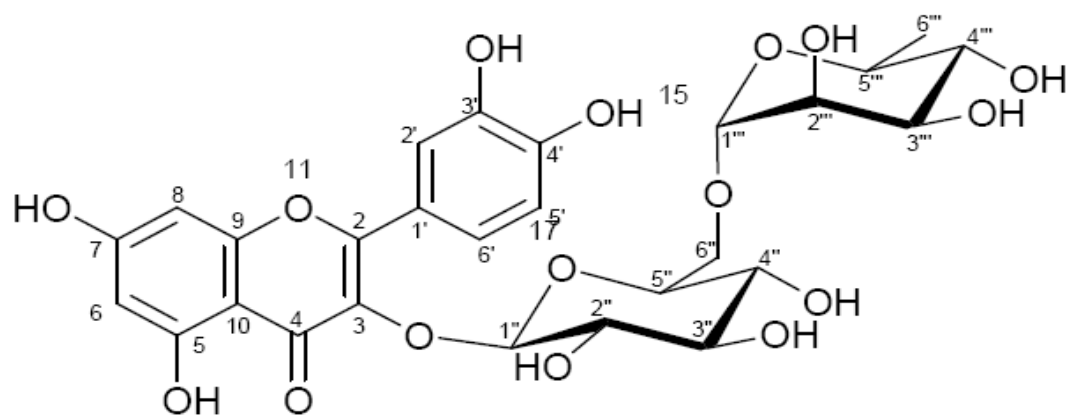


Figure I : Structure de la rutine (F.D.Sianard)

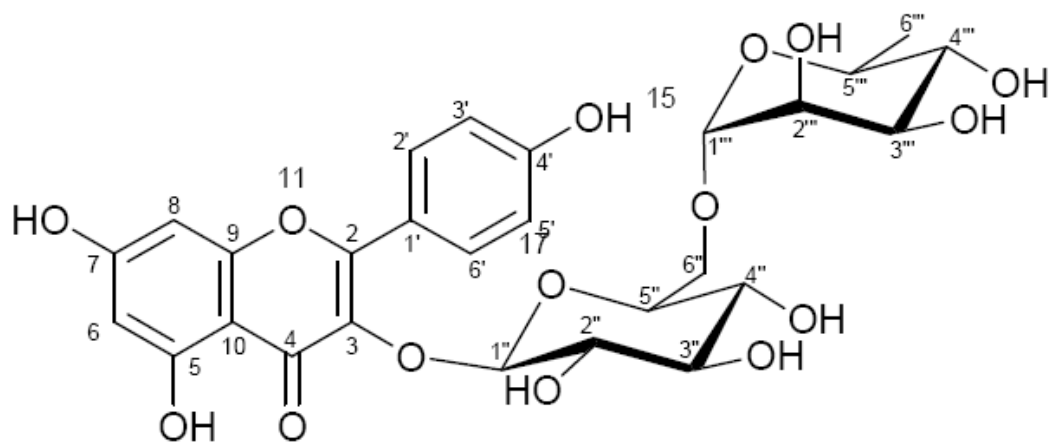


Figure II : Structure du Kaempferol-3-O-rutinoside (f.d.Sianard)