

CHROM. 18 063

## Note

---

### Plantes médicinales africaines

#### XIX. Dosage de la vitexine par chromatographie liquide haute performance dans un extrait brut de *Combretum micranthum* G. Don

E. BASSENE et A. LAURANCE

*Laboratoires de Pharmacognosie et de Chimie des Substances Naturelles, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Dakar (Sénégal)*

D. OLSCHWANG

*Laboratoire de Chimie Physique et Analytique, Faculté des Sciences, Dakar (Sénégal)*

et

J. L. POUSSET\*

*Laboratoires de Pharmacognosie et de Chimie des Substances Naturelles, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Dakar (Sénégal)*

(Reçu le 14 mai 1985; manuscrit modifié reçu le 22 juillet 1985)

Le *Combretum micranthum* (kinkéliba) est une des espèces les plus populaires de la pharmacopée sénégalaise<sup>1</sup>.

De très nombreuses spécialités pharmaceutiques utilisées comme cholagogue ou cholérétique contiennent des extraits de *Combretum*, ce qui a été justifié par plusieurs de nos travaux antérieurs<sup>2,3</sup>.

Étant donné, en outre, la présence d'hétérosides flavoniques majoritaires, comme la vitexine et l'isovitexine<sup>4</sup>, en équilibre par le réarrangement bien connu de Wesely-Moser<sup>5</sup>, il nous a semblé intéressant d'identifier et de doser la vitexine —soit la C-glucosyl-8 apigenine— dans un extrait brut de kinkéliba, et de déterminer la teneur des feuilles de cette plante en vitexine. Le dosage par chromatographie liquide haute performance est actuellement la méthode la plus fiable et la plus rapide pour l'identification et le dosage de ce type de composés<sup>6,7</sup>.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Chromatographe liquide à haute performance Waters Assoc., Modèle 6000, équipé d'un détecteur d'absorption à 254 nm (Modèle 440) et d'un injecteur UGK. La sensibilité utilisée est 0,1.

La colonne (30 cm × 3,9 mm) est présemplee avec du  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> de 10  $\mu$ m. Les solvants utilisés sont filtrés sur membrane Millipore de 0,45  $\mu$ m et dégazés sous vide.

Matériel végétal: feuilles récoltées dans la région de Thiès (Sénégal).

Extraction: 10 g de feuilles séchées à l'abri de la lumière solaire sont finement broyées, dégraissées à l'éther de pétrole, puis extraites par deux fois 500 ml d'eau

bouillante. Après concentration jusqu'à 200 ml et filtration, la solution est évaporée à sec, sous pression réduite, et le résidu repris par 20 ml de méthanol bouillant. Une deuxième filtration permet l'élimination d'un précipité, lavé, et l'ensemble des filtrats rejoints et évaporés à sec conduisent à un résidu de 1,81 g, soit un rendement de 18% en masse.

Témoins: vitexine et isovitexine isolées et identifiées selon une méthode déjà décrite<sup>8</sup>.

Identification des flavonosides de l'extrait: injection simultanée de témoin authentique.

Dosage de la vitexine: une gamme étalon est effectuée par dix injections de 2  $\mu$ l de vitexine témoin à des quantités comprises entre 0,1 et 1  $\mu$ g.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

N'ayant pas la possibilité de travailler en gradient de solvant, les meilleurs résultats ont été obtenus avec le mélange eau-méthanol-acide acétique (65:30:5), et avec un débit de 2 ml/min à la pression de 2000 p.s.i. Les résultats sont représentés sur la Fig. 1, où les pics 1 et 2 correspondent respectivement à la vitexine et à l'isovitexine (temps de rétention 2 min 24 s et 3 min 24 s).

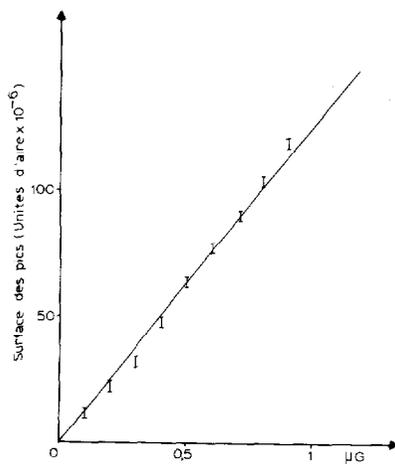
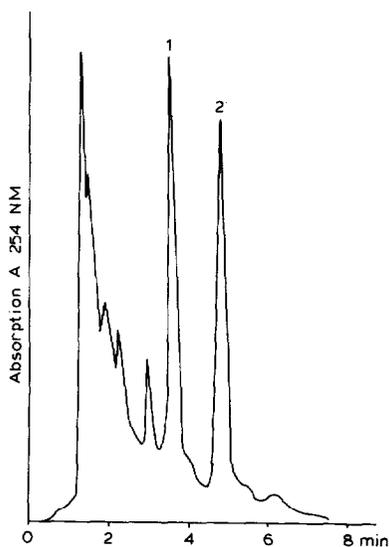


Fig. 1. Chromatogramme d'un extrait brut de *Combretum micranthum* G. Don.

Fig. 2. Graphe d'étalonnage de la vitexine (intervalle de confiance  $\pm 1,5 \cdot 10^{-6}$  pour  $p < 0,05$ ).

La courbe étalon, indiquée sur la Fig. 2, montre une relation linéaire entre la quantité de vitexine injectée et l'intensité de l'absorption à 254 nm.

Des essais de reproductibilité ont été effectués en injectant dix fois la même quantité de vitexine (0,3  $\mu$ g). Pour une probabilité  $p < 0,05$ , l'intervalle de confiance est de  $\pm 1,5 \cdot 10^{-6}$  unités d'aire.

La droite de régression correspondant à la gamme étalon a un coefficient de corrélation de 0,999 (établie à l'ordinateur).

L'extraction de la vitexine à partir d'un même échantillon de feuille a été répétée cinq fois. Le coefficient de variation pour le dosage est dans ces conditions inférieure à 9%.

45  $\mu\text{g}$  de l'extrait brut correspondent à 0,56  $\mu\text{g}$  de vitexine, soit une teneur de 1,24 g%. Compte tenu du rendement de l'extraction, la teneur en vitexine des feuilles de *Combretum micranthum* utilisées pour ce dosage est de 0,22%.

#### CONCLUSION

Ces résultats montrent que la chromatographie liquide haute performance est une méthode simple et fiable pour le dosage de la vitexine dans un extrait de kinkéliba: cette technique peut être parfaitement adaptée à un contrôle systématique d'une spécialité pharmaceutique.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. Kerharo et J. G. Adam, *La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle*, Vigot Frères, Paris, 1974, p. 346.
- 2 E. Bassene, D. Olschwang et J. L. Pousset, *Dakar Médical*, 26 (1981) 219.
- 3 E. Bassene, D. Olschwang et J. L. Pousset, *J. Afr. Med. Plants*, soumis pour publication.
- 4 K. Jentzch, P. Spiengel et L. Fuchus, *Planta Medica*, 10 (1962) 1.
- 5 S. K. Mukerjee et T. R. Seshadri, *Chem. Ind. (London)*, (1955) 271.
- 6 D. J. Daigle et E. J. Conkerton, *J. Chromatogr.*, 240 (1982) 202.
- 7 I. McMurrough, *J. Chromatogr.*, 218 (1981) 683.
- 8 E. Bassene, *Étude de la composition chimique du Combretum micranthum G. Don*, Thèse de doctorat dès Sciences pharmaceutiques, Dakar, 1985, p. 24.