

VIGNE ROUGE

Vitis vinifera

La partie utilisée de la vigne rouge dite à cépage « teinturier » est constituée par la feuille séchée, provenant de variétés à raisin noir et à pulpe rouge, de *Vitis vinifera* L. La vigne rouge contient au minimum 4,0 pour cent de polyphénols totaux et 0,20 pour cent d'anthocyanosides, exprimés en 3-glucoside-cyanidol ($C_{21}H_{21}O_{11}$; M_r 449).

CARACTÈRES

Examinée au microscope, la section transversale de la feuille montre une nervure principale peu saillante à la face supérieure et très saillante à la face inférieure, de contour plus ou moins irrégulier et présentant du collenchyme angulaire sous chaque épiderme. L'appareil conducteur est formé d'un pachyte discontinu constitué de 4 à 6 faisceaux libéro-ligneux, disposés en cercle. Le liber, surmonté de quelques fibres sclérifiées, et le parenchyme fondamental, constitué de cellules de taille irrégulière, renferment des macles d'oxalate de calcium. L'épiderme inférieur du limbe et de la nervure porte des poils tecteurs, unicellulaires, à base renflée, à paroi épaisse ; le lumen est divisé en logettes. Le limbe est à mésophylle asymétrique, il comprend une seule assise de cellules palissadiques sous laquelle sont disposées de nombreuses cellules à raphides ou à macles d'oxalate de calcium.

Elle présente les caractères macroscopiques et microscopiques décrits aux identifications A et B.

IDENTIFICATION

- A. La feuille de vigne rouge, longuement pétiolée, est cordiforme, palmatinervée à 5-7 lobes dentés, séparés par des sinus plus ou moins profonds et ouverts. Elle peut mesurer jusqu'à 15 cm de long et 12 cm dans sa plus grande largeur, sa teinte est uniformément rouge foncé. Glabre à la face supérieure, elle peut être pubescente à la face inférieure. Les nervures sont saillantes à la face inférieure.
- B. Réduisez en poudre (355). La poudre est rouge-brun. Examinée au microscope, la vigne rouge pulvérisée est caractérisée par la présence de poils tecteurs plus ou moins abondants, unicellulaires, longs et effilés, à base renflée ou tronquée, à paroi épaisse et à lumen divisé en logettes ; de nombreuses raphides d'oxalate de calcium localisées dans des cellules ou dispersées ; de fragments de parenchyme renfermant des macles d'oxalate de calcium ; de rares débris épidermiques à cellules polygonaux et de quelques vaisseaux réticulés.
- C. Opérez par chromatographie sur couche mince (2.2.27) en utilisant une plaque recouverte d'un gel de silice approprié contenant un indicateur de fluorescence dont l'intensité est optimale à 254 nm.

Solution à examiner. À 1,0 g de vigne rouge pulvérisée, ajoutez 10 mL d'éthanol à 60 pour cent V/V R. Placez sous agitation magnétique pendant 30 min. Filtrez.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

Solution témoin (a). Dissolvez 10 mg d'isoquercitroside R dans 10 mL d'éthanol à 96 pour cent R.

Solution témoin (b). Dissolvez 10 mg d'acide chlorogénique R dans 10 mL d'éthanol à 96 pour cent R.

Déposez séparément sur la plaque, en bandes, 15 µL de la solution à examiner et 10 µL de chacune des solutions témoins. Développez sur un parcours de 13 cm avec un mélange de 11 volumes d'acide acétique R, de 11 volumes d'acide formique anhydre R, de 27 volumes d'eau R et de 100 volumes d'acétate d'éthyle R. Laissez sécher la plaque à l'air. Examinez à la lumière du jour. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente dans sa moitié inférieure une à deux bandes rouge violacé, surmontées d'une bande rouge-rose (3-glucoside-péonidol) plus importante que les deux précédentes. Pulvérisez une solution de diphénylborate d'aminoéthanol R à 10 g/L et de macrogol 400 R à 50 g/L dans du méthanol R. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente dans la moitié supérieure une série de bandes fluorescentes, une bande bleu-vert de R_f légèrement inférieur à celui de la bande du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (acide monocaféyl-tartrique), surmontée de quatre bandes : trois de fluorescence orangée dont deux principales, l'une située immédiatement au-dessus de la bande du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (3-glucuronide-quercétol), l'autre semblable quant à sa position et sa coloration à la bande du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) et une bande de fluorescence jaune de faible intensité, située au-dessus de la bande du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

ESSAI

Éléments étrangers (2.8.2). La vigne rouge satisfait à l'essai des éléments étrangers.

Cuivre. Transférez quantitativement le résidu obtenu dans l'essai Cendres totales dans une fiole conique, à l'aide de 50 mL d'eau R. Ajoutez 10 mL d'une solution de citrate de sodium R à 200 g/L, 10 mL d'édétate de sodium 0,1 M et 10 mL de solution de diéthylthiocarbamate de sodium R. Laissez reposer pendant 2 min. La coloration jaune orangé obtenue n'est pas plus intense que celle d'une solution témoin préparée dans les mêmes conditions à partir de 20 mL de solution à 10 ppm de cuivre (Cu) R et de 30 mL d'eau R (200 ppm).

Perte à la dessiccation (2.2.32). Déterminée à l'étuve à 105 °C sur 1,000 g de vigne rouge pulvérisée, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 12,0 pour cent.

Cendres totales (2.4.16). Le taux des cendres totales n'est pas supérieur à 15,0 pour cent.

DOSAGE

Polyphénols totaux. Dans une fiole conique, introduisez 1,000 g (*m*) de vigne rouge pulvérisée (180) et ajoutez 150 mL d'eau R. Faites bouillir et maintenez au bain-marie pendant 30 min. Refroidissez à l'eau courante, puis introduisez le mélange dans un ballon jaugé et complétez à 250,0 mL avec de l'eau R. Laissez décanter, puis filtrez le liquide sur un papier filtre d'un diamètre de 12 cm. Éliminez les 50 premiers millilitres du filtrat et utilisez le reste pour le dosage. Prélevez 5,0 mL du filtrat et complétez à 25,0 mL avec de l'eau R. Prélevez 5,0 mL de cette solution, ajoutez 1,0 mL de la solution d'acide phosphotungstique R, mélangez et complétez à 50,0 mL avec une solution de carbonate de sodium R à 150 g/L. Mesurez l'absorbance (2.2.25) à 715 nm (A_1) exactement 2 min après la dernière addition de réactif et utilisez l'eau R comme liquide de

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

compensation.

Essai témoin. Effectuez les opérations suivantes à l'abri de la lumière. Dissolvez 50,0 mg de pyrogallol R dans de l'eau R et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 5,0 mL de solution et complétez à 100,0 mL avec de l'eau R. Prélevez 5,0 mL de cette dernière solution, ajoutez 1,0 mL de la solution d'acide phosphotungstique R et complétez à 50,0 mL avec une solution de carbonate de sodium R à 150 g/L. Mesurez l'absorbance (2.2.25) à 715 nm (A_2) exactement 2 min après la dernière addition de réactif et dans les 15 min qui suivent la dissolution du pyrogallol. Utilisez l'eau R comme liquide de compensation.

Calculez la teneur pour cent en polyphénols totaux à l'aide de l'expression :

$$\frac{13,12 \times A_1}{A_2 \times m}$$

Anthocyanosides. À environ 1,000 g (m) de vigne rouge pulvérisée (180) exactement pesé, ajoutez 80 mL d'une solution d'acide chlorhydrique R à 0,1 pour cent V/V dans le méthanol R et placez sous agitation magnétique, à l'abri de la lumière, pendant 30 min. Laissez décanter. Recueillez la phase méthanolique et procédez à une deuxième extraction puis à une troisième extraction dans les mêmes conditions, pendant 15 min avec 50 mL de solution d'acide chlorhydrique R à 0,1 pour cent V/V dans le méthanol R à chaque fois. Réunissez les solutions méthanoliques dans une fiole jaugée de 200,0 mL, en les filtrant au préalable sur papier filtre et ajustez au volume avec le même solvant ayant servi au lavage du résidu d'extraction. Diluez cette solution au 1/5 dans une solution d'acide chlorhydrique R à 0,1 pour cent V/V dans le méthanol R.

Mesurez l'absorbance (A) (2.2.25) de la solution obtenue à 528 nm, en prenant une solution d'acide chlorhydrique R à 0,1 pour cent V/V dans le méthanol R, comme liquide de compensation.

Calculez la teneur pour cent en anthocyanosides, exprimés en 3-glucosidecyanidol, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A \times 1000}{772 \times m}$$

en prenant 772 comme valeur de l'absorbance spécifique du 3-glucosidecyanidol à 528 nm.

CONSERVATION

À l'abri de la lumière et de l'humidité.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.