

AUBÉPINE POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

CRATAEGUS OXYACANTHA POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

Crataegus monogyna et Crataegus laevigata ad praeparationes homoeopathicas

Souche d'aubépine préparée à la teneur en éthanol de 55 pour cent V/V, en mélangeant à volumes égaux la teinture mère Aubépine (sommité fleurie d') et la teinture mère Aubépine (baie d').

1 - AUBÉPINE (SOMMITÉ FLEURIE D')

DÉFINITION

Sommité fleurie, fraîche, de *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.) ou de *Crataegus laevigata* (Poir.) D C. (synonyme : *Crataegus oxyacantha* L.) ou de leurs hybrides ou de leur mélange.

CARACTÈRES

Caractères macroscopiques et microscopiques décrits aux identifications A et B.

IDENTIFICATION

- A. Rameaux, bruns foncés, ligneux, d'un diamètre compris entre 1,0 mm et 2,5 mm portant des feuilles alternes, pétiolées, à petites stipules souvent caduques ainsi que de nombreuses petites fleurs blanches, parfois légèrement rosées, disposées en corymbes. Feuilles, plus ou moins profondément lobées, à bord légèrement denté ou presque entier ; celles de *C. laevigata*, pennatilobées ou pennatifides, et divisées en 3, 5 ou 7 lobes obtus ; celles de *C. monogyna*, pennatiséquées, et divisées en 3 ou 5 lobes acuminés. Face adaxiale vert foncé à vert-brun, face abaxiale d'un vert-gris plus clair présentant une nervation réticulée dense et saillante. Feuilles de *C. laevigata* et *C. monogyna* glabres ou portant seulement des poils isolés. Fleurs à calice tubulaire vert-brun composé de 5 sépales, libres, réfléchis; corolle formée de 5 pétales libres de couleur blanc-jaune à brunâtre, arrondis à approximativement ovales, brièvement onguiculés ; nombreuses étamines. Ovaire, soudé au calice, à 1 à 5 carpelles surmontés chacun d'un long style et contenant un seul ovule ; celui de *C. monogyna* comportant un seul carpelle, celui de *C. laevigata* en comportant 2 ou 3.
- B. Examinez au microscope un fragment d'épiderme inférieur de la feuille, en utilisant la *solution d'hydrate de chloral R*. Epiderme abaxial composé de cellules à paroi anticlinale sinueuse à polygonale, de grands stomates de type anomocytique (2.8.3) entourés de 4 à 7 cellules annexes et de rares poils tecteurs unicellulaires, le plus souvent à paroi épaisse et large lumen, presque droits ou légèrement recourbés, ponctués à la base.

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

ESSAI

Éléments étrangers (2.8.2) : au maximum 5 pour cent.

Perte à la dessiccation (2.2.32) : au minimum 60,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h, sur 5,0 g de drogue finement découpée.

TEINTURE MÈRE INTERMÉDIAIRE

DÉFINITION

Teinture mère intermédiaire d'aubépine (sommité fleurie d') préparée à la teneur en éthanol de 65 pour cent V/V, à partir de la sommité fleurie, fraîche, de *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.) ou de *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. ou de leurs hybrides ou de leur mélange, selon la technique générale de préparation des teintures mères (voir la monographie *Préparations homéopathiques* (1038) et la Précision complémentaire de l'Autorité française de Pharmacopée).

Teneur : au minimum 0,10 pour cent *m/m* de flavonoïdes totaux, exprimés en hypéroside (C₂₁H₂₀O₁₂ ; M_r 464,4).

CARACTÈRES

Aspect : liquide brun.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin. Dissolvez 2 mg d'acide caféique R, 2 mg d'acide chlorogénique R, 5 mg d'hypéroside R, et 5 mg de rutine R dans 60 mL de méthanol R.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : acide formique anhydre R, eau R, méthyléthylcétone R, acétate d'éthyle R (10:10:30:50 V/V/V/V).

Dépôt : 20 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 15 cm.

Séchage : à 100-105 °C.

Détection : pulvérisez une solution de diphénylborate d'aminoéthanol R à 10 g/L dans le méthanol R. Pulvérisez ensuite une solution de macrogol 400 R à 50 g/L dans le méthanol R. Laissez sécher la plaque à l'air pendant 30 min. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

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

Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes fluorescentes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes fluorescentes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande bleu-vert -----	Une bande bleu-vert Une bande vert-jaune faible (vitexine) -----
Hypéroside : une bande orangée Acide chlorogénique : une bande bleu-vert	Une bande orangée (hypéroside) Une bande bleu-vert (acide chlorogénique) Une bande vert-jaune (2''-rhamnoside-vitexine)
Rutine : une bande orangée -----	Une bande orangée (rutine) -----
Solution témoin	Solution à examiner

ESSAI

Éthanol (2.9.10) : 60 pour cent V/V à 70 pour cent V/V.

Résidu sec (2.8.16) : au minimum 1,5 pour cent m/m.

DOSAGE

Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25).

Solution mère. Introduisez 2,000 g de teinture mère dans une fiole jaugée de 50,0 mL et complétez à 50,0 mL avec de l'éthanol à 60 pour cent V/V R.

Solution à examiner. Introduisez 5,0 mL de solution mère dans un ballon à fond rond et évaporez à siccité sous pression réduite. Reprenez le résidu avec 8,0 mL du mélange de 10 volumes de méthanol R et de 100 volumes d'acide acétique glacial R, et transvasez dans une fiole jaugée de 25,0 mL. Rincez le ballon à fond rond avec 3,0 mL du mélange de 10 volumes de méthanol R et de 100 volumes d'acide acétique glacial R, et versez dans la même fiole jaugée de 25,0 mL que précédemment. Ajoutez 10,0 mL d'une solution contenant 25,0 g/L d'acide borique R et 20,0 g/L d'acide oxalique R dans l'acide formique anhydre R puis complétez à 25,0 mL avec l'acide acétique anhydre R.

Liquide de compensation. Introduisez 5,0 mL de solution mère dans un ballon à fond rond et évaporez à siccité sous pression réduite. Reprenez le résidu dans 8,0 mL du mélange de 10 volumes de méthanol R et 100 volumes d'acide acétique glacial R et transvasez dans une fiole jaugée de 25,0 mL. Rincez le ballon à fond rond avec 3,0 mL du mélange de 10 volumes de méthanol R et 100 volumes d'acide acétique glacial R, et versez dans la même fiole jaugée de 25,0 mL que précédemment. Ajoutez 10,0 mL d'acide formique anhydre R puis complétez à 25,0 mL avec l'acide acétique anhydre R.

Après 30 min, mesurez l'absorbance de la solution à examiner à 410 nm par comparaison avec le liquide de compensation.

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

Calculez la teneur pour cent m/m en flavonoïdes totaux, exprimés en hypéroside, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A \times 250}{405 \times m}$$

en prenant 405 comme valeur de l'absorbance spécifique de l'hypéroside à 410 nm.

A = absorbance de la solution à examiner, à 410 nm,
 m = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes.

2 - AUBÉPINE (BAIE D')

DÉFINITION

Pseudo-fruit, communément appelé baie, mûr, frais, de *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.) ou de *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. ou de leurs hybrides ou de leur mélange.

CARACTÈRES

Caractères macroscopiques décrits en identification.

IDENTIFICATION

Pseudo-fruit charnu, obové à globulaire, généralement d'une longueur de 6 mm à 10 mm et d'une largeur de 4 mm à 8 mm, de couleur brun-rouge à rouge sombre. Surface ponctuée ou, plus rarement, réticulée. Extrémité supérieure couronnée par les restes de 5 sépales réfléchis, entourant un petit disque en creux délimité par un léger renflement. Au centre du disque, restes du style avec, à la base, des touffes de poils, raides, incolores. Extrémité inférieure du pseudo-fruit portant un court fragment du pédicelle ou, plus fréquemment, une petite cicatrice ronde de couleur claire correspondant au point d'attache du pédicelle. Pseudo-fruit contenant une drupe ovoïde, brun jaune, à paroi épaisse et dure, renfermant une graine unique brun pâle, lisse et luisante, de forme allongée.

Pseudo-fruit de *Crataegus laevigata* d'une longueur pouvant atteindre 13 mm contenant 2 à 3 drupes, à face ventrale aplatie, présentant des poils courts à leur extrémité. Centre du disque surmontant le pseudo-fruit portant souvent les restes des deux styles.

ESSAI

Éléments étrangers (2.8.2) : satisfait à l'essai.

Perte à la dessiccation (2.2.32) : au minimum 50,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h, sur 5,0 g de drogue finement découpée.

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

TEINTURE MÈRE INTERMÉDIAIRE

DÉFINITION

Teinture mère intermédiaire d'aubépine (baie d') préparée à la teneur en éthanol de 45 pour cent V/V, à partir du pseudo-fruit communément appelé baie, mûr, frais de *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.) ou de *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. ou de leurs hybrides ou de leur mélange, selon la technique générale de préparation des teintures mères (voir la monographie *Préparations homéopathiques (1038)* et la Précision complémentaire de l'Autorité française de Pharmacopée).

Teneur : au minimum 0,05 pour cent *m/m* de procyanidines, exprimées en chlorure de cyanidine ($C_{15}H_{11}ClO_6$; M_r 322,7).

CARACTÈRES

Aspect : liquide brun-rouge.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin. Dissolvez 2 mg d'acide caféique R, 2 mg d'acide chlorogénique R, 5 mg d'hypéroside R, et 5 mg de rutine R dans 60 mL de méthanol R.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : acide formique anhydre R, eau R, méthyléthylcétone R, acétate d'éthyle R (10:10:30:50 V/V/V/V).

Dépôt : 30 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 15 cm.

Séchage : à 100-105 °C.

Détection : pulvérisez une solution de diphénylborate d'aminoéthanol R à 10 g/L dans le méthanol R. Pulvérisez ensuite une solution de macrogol 400 R à 50 g/L dans du méthanol R. Laissez sécher la plaque à l'air pendant 30 min. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes fluorescentes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes fluorescentes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

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

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande bleu-vert -----	Une bande bleu-vert (acide caféique) Une bande bleu clair -----
Hypéroside : une bande orangée	Une bande orangée de faible intensité (hypéroside)
Acide chlorogénique : une bande bleu-vert Rutine : une bande orangée -----	Une bande bleu-vert (acide chlorogénique) -----
Solution témoin	Solution à examiner

ESSAI

Éthanol (2.9.10) : 40 pour cent V/V à 50 pour cent V/V.

Résidu sec (2.8.16) : au minimum 1,5 pour cent *m/m*.

DOSAGE

Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25).

Solution à examiner. Dans un ballon à fond rond, introduisez 25,00 g de teinture mère, ajoutez 10 mL d'éthanol à 70 pour cent V/V R, 15 mL d'acide chlorhydrique R1 et 10 mL d'eau R. Chauffez à reflux pendant 80 min. Laissez refroidir, filtrez sur papier dans une fiole jaugée de 250,0 mL. Lavez le résidu avec de l'éthanol à 70 pour cent V/V R jusqu'à l'obtention d'un filtrat incolore. Complétez le filtrat à 250,0 mL avec de l'éthanol à 70 pour cent V/V R. Introduisez 50,0 mL de solution dans un ballon à fond rond, évaporez jusqu'à réduction du volume à 3 mL environ, et transvasez dans une ampoule à décantation. Rincez le ballon à fond rond avec 10 mL puis 5 mL d'eau R et transvasez dans l'ampoule à décantation. Agitez avec 4 fois 15 mL de butanol R. Réunissez les phases organiques et complétez à 100,0 mL avec du butanol R. Filtrez si nécessaire.

Liquide de compensation : butanol R

Après 6 min, mesurez l'absorbance de la solution à examiner à 545 nm, par comparaison avec le liquide de compensation.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en procyanidines, exprimées en chlorure de cyanidine, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A \times 500}{75 \times m}$$

en prenant 75 comme valeur de l'absorbance spécifique du chlorure de cyanidine à 545 nm.

A = absorbance de la solution à examiner, à 545 nm,

m = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes.

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

SOUCHE

DÉFINITION

Teinture mère d'aubépine préparée à la teneur en éthanol de 55 pour cent V/V, en mélangeant à volumes égaux la teinture mère intermédiaire Aubépine (sommité fleurie d') et la teinture mère intermédiaire Aubépine (baie d').

Teneur : au minimum 0,05 pour cent *m/m* de flavonoïdes totaux, exprimés en hypéroside ($C_{21}H_{20}O_{12}$; M_r 464,4) et au minimum 0,12 pour cent *m/m* de procyanidines, exprimées en chlorure de cyanidine ($C_{15}H_{11}ClO_6$; M_r 322,7).

CARACTÈRES

Aspect : liquide brun.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin. Dissolvez 2 mg d'acide caféique R, 2 mg d'acide chlorogénique R, 5 mg d'hypéroside R, et 5 mg de rutine R dans 60 mL de méthanol R.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : acide formique anhydre R, eau R, méthyléthylcétone R, acétate d'éthyle R (10:10:30:50 V/V/V/V).

Dépôt : 20 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 15 cm.

Séchage : à 100-105 °C.

Détection : pulvérisez une solution de diphénylborate d'aminoéthanol R à 10 g/L dans le méthanol R. Pulvérisez ensuite une solution de macrogol 400 R à 50 g/L dans le méthanol R. Laissez sécher la plaque à l'air pendant 30 min. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes fluorescentes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes fluorescentes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

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

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande bleu-vert -----	Une bande bleu-vert Une bande vert-jaune faible (vitexine) -----
Hypéroside : une bande orangée Acide chlorogénique : une bande bleu-vert	Une bande orangée (hypéroside) Une bande bleu-vert (acide chlorogénique) Une bande vert-jaune (2''-rhamnoside-vitexine)
Rutine : une bande orangée -----	Une bande orangée (rutine) -----
Solution témoin	Solution à examiner

ESSAI

Éthanol (2.9.10) : 50 pour cent V/V à 60 pour cent V/V.

Résidu sec (2.8.16) : au minimum 1,5 pour cent *m/m*.

DOSAGE

A. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25).

Solution mère. Introduisez 2,000 g de teinture mère dans une fiole jaugée de 50,0 mL et complétez à 50,0 ml avec de l'éthanol à 60 pour cent V/V R.

Solution à examiner. Introduisez 5,0 mL de solution mère dans un ballon à fond rond et évaporez à siccité sous pression réduite. Reprenez le résidu avec 8,0 mL d'un mélange de 10 volumes de méthanol R et de 100 volumes d'acide acétique glacial R, et transvasez dans une fiole jaugée de 25,0 mL. Rincez le ballon à fond rond avec 3,0 mL d'un mélange de 10 volumes de méthanol R et de 100 volumes d'acide acétique glacial R, et versez dans la même fiole jaugée de 25,0 mL que précédemment. Ajoutez 10,0 mL d'une solution contenant 25,0 g/L d'acide borique R et 20,0 g/L d'acide oxalique R dans de l'acide formique anhydre R puis complétez à 25,0 mL avec de l'acide acétique anhydre R.

Liquide de compensation. Introduisez 5,0 mL de solution mère dans un ballon à fond rond et évaporez à siccité sous pression réduite. Reprenez le résidu dans 8,0 mL d'un mélange de 10 volumes de méthanol R et 100 volumes d'acide acétique glacial R et transvasez dans une fiole jaugée de 25 mL. Rincez le ballon à fond rond avec 3,0 mL d'un mélange de 10 volumes de méthanol R et 100 volumes d'acide acétique glacial R, et versez dans la même fiole jaugée de 25,0 mL que précédemment. Ajoutez 10,0 mL d'acide formique anhydre R puis complétez à 25,0 mL avec de l'acide acétique anhydre R.

Après 30 min, mesurez l'absorbance de la solution à examiner à 410 nm, par comparaison avec le liquide de compensation.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en flavonoïdes totaux, exprimés en hypéroside, à l'aide de l'expression :

$$A \times 250$$

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

$$m \times 405$$

en prenant 405 comme valeur de l'absorbance spécifique de l'hypéroside à 410 nm.

A = absorbance de la solution à examiner, à 410 nm,

m = masse de la prise d'essai de la solution mère, en grammes.

B. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25).

Solution mère. Dans un ballon à fond rond, introduisez 25,00 g de teinture mère, ajoutez 10 mL d'éthanol à 70 pour cent V/V R, 15 mL d'acide chlorhydrique R1 et 10 mL d'eau R. Chauffez à reflux pendant 80 min. Laissez refroidir, filtrez sur papier sur une fiole jaugée de 250 mL. Lavez le résidu avec de l'éthanol à 70 pour cent V/V R jusqu'à l'obtention d'un filtrat incolore. Complétez le filtrat à 250,0 mL avec de l'éthanol à 70 pour cent V/V R.

Solution à examiner. Introduisez 50,0 mL de solution mère dans un ballon à fond rond, évaporez jusqu'à réduction du volume à 3 mL environ, et transvasez dans une ampoule à décantation. Rincez le ballon à fond rond avec 10 mL puis 5 mL d'eau R et transvasez dans l'ampoule à décantation. Agitez avec 4 fois 15 mL de butanol R. Réunissez les phases organiques et complétez à 100,0 mL avec du butanol R. Filtrez si nécessaire.

Liquide de compensation : butanol R.

Après 6 min, mesurez l'absorbance de la solution à examiner à 545 nm par comparaison avec le liquide de compensation.

Calculez la teneur pour cent m/m en procyanidines, exprimées en chlorure de cyanidine, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A \times 500}{75 \times m}$$

en prenant 75 comme valeur de l'absorbance spécifique du chlorure de cyanidine à 545 nm.

A = absorbance de la solution à examiner, à 545 nm,

m = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes.

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