

**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

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

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 sinuée 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.

ESSAI

Eléments 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 0,0080 pour cent m/m de vitexine-2" rhamnoside ($C_{27}H_{30}O_{14}$; M_r 578,5).

CARACTÈRES

Aspect : liquide brun.

IDENTIFICATION

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

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin (a). Dissolvez 5 mg d'*hypéroside R* dans 60 mL de *méthanol R*.

Solution témoin (b). Dissolvez 2 mg de *quercitroside R* dans 60 mL de *méthanol R*.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : eau R, acide formique anhydre R, acétate d'éthyle R (10:10:80 V/V/V).

Dépôt : 10 µL, en bandes de 10 mm.

Développement : sur un parcours de 7 cm.

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez une *solution de réactif de pulvérisation pour produits naturels 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 minutes. 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.

Haut de la plaque	
Solution témoin	Solution à examiner
Quercitroside : une bande orangée	Une bande bleu-vert
-----	-----
Hypéroside : une bande orangée	Une bande bleue à bleu-vert Une bande orangée Une bande verte Une bande orangée peut apparaître Une à deux bandes vertes
-----	-----
Solution témoin	
Solution à examiner	

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

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

Chromatographie liquide (2.2.29).

Solution à examiner. Dans une fiole jaugée de 20,0 mL, introduisez 2,500 g de teinture mère et complétez à 20,0 mL avec une solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*. Filtrez la solution sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,2 µm).

Solution témoin. Dans une fiole jaugée de 100,0 mL, dissolvez 20,0 mg de *vitexine-2" rhamnoside R* dans du *méthanol R* et complétez à 100,0 mL avec le même solvant (solution 1). Dans une fiole jaugée de 50,0 mL, dissolvez 18,0 mg d'*hypéroside R* dans l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 50,0 mL avec le même solvant (solution 2). Dans une fiole jaugée de 50,0 mL, introduisez 10,0 mL de solution 1 et 5,0 mL de solution 2 et complétez à 50,0 mL avec une solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*.

Colonne :

- *dimensions* : $l = 0,15\text{ m}$, $\varnothing = 4,6\text{ mm}$,
- *phase stationnaire* : *gel de silice octadécylsilylé à noyau solide pour chromatographie R* (2,6 µm)¹,
- *température* : 30 °C.

Phase mobile :

- *phase mobile A* : solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*,
- *phase mobile B* : *acétonitrile R*,

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent <i>V/V</i>)	Phase mobile B (pour cent <i>V/V</i>)
0 - 10	92	8
10 - 17	92 → 90	8 → 10
17 - 20	90	10

¹ Colonne Kinetex : Phenomenex référence 00F-4462-E0 convient

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

20 - 37	90 → 85	10 → 15
37 - 41	85	15
41 - 42	85 → 5	15 → 95
42 - 43	5 → 92	95 → 8
43 - 51	92	8

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre réglé à 355 nm.

Injection : 20 µL.

Enregistrement : 42 min.

Temps de rétention : vitexine-2" rhamnoside = environ 33,6 min ; hypéroside = environ 35,9 min.

Conformité du système : solution témoin.

- résolution : au minimum 2 entre les pics dus à la vitexine-2" rhamnoside et à l'hypéroside.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en vitexine-2" rhamnoside à l'aide de l'expression :

$$\frac{A_1}{A_2} \times \frac{m_1 \times 10}{100 \times 50} \times \frac{20}{m_2} \times 100 \times \frac{p}{100} = \frac{A_1 \times m_1}{A_2 \times m_2} \times 0,04 \times p$$

A₁ = aire du pic correspondant à la vitexine-2" rhamnoside dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

A₂ = aire du pic correspondant à la vitexine-2" rhamnoside dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,

m₂ = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes,

m₁ = masse de la prise d'essai de vitexine-2" rhamnoside, en grammes,

p = teneur pour cent en vitexine-2" rhamnoside dans la *vitexine-2" rhamnoside R*.

2 - AUBÉPINE (BAIE D')

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

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

Eléments 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.

TEINTURE MÈRE INTERMÉDIAIRE

DÉFINITION

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

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 0,0040 pour cent *m/m* d'acides phénols, exprimés en acide chlorogénique ($C_{16}H_{18}O_9$; M_r 354,3).

CARACTÈRES

Aspect : liquide brun-rouge.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin (a). Dissolvez 5 mg d'*hypéroside R* dans 60 mL de *méthanol R*.

Solution témoin (b). Dissolvez 2 mg de *quercitroside R* dans 60 mL de *méthanol R*.

Plaque : plaque au gel de silice pour *CCM R*.

Phase mobile : *eau R, acide formique anhydre R, acétate d'éthyle R* (10:10:80 *V/V/V*).

Dépôt : 10 μ L, en bandes de 10 mm.

Développement : sur un parcours de 7 cm.

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez une *solution de réactif de pulvérisation pour produits naturels 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 minutes. 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	
Solution témoin	Solution à examiner
Quercitroside : une bande orangée ----- Hypéroside : une bande orangée -----	Une bande bleu-vert Une bande bleu-vert ----- Une bande bleue à bleu-vert Une bande orangée -----

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

Chromatographie liquide (2.2.29).

Solution à examiner. Dans une fiole jaugée de 20,0 mL, introduisez 10,000 g de teinture mère et complétez à 20,0 mL avec une solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*. Filtrez la solution sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

Solution témoin. Dans une fiole jaugée de 100,0 mL, dissolvez 30,0 mg d'*acide chlorogénique R* dans du *méthanol R* et complétez à 100,0 mL avec le même solvant (solution 1). Dans une fiole jaugée de 100,0 mL, dissolvez 20,0 mg d'*acide caféïque R* dans du *méthanol R* et complétez à 100,0 mL avec le même solvant (solution 2). Dans une fiole jaugée de 50,0 mL, introduisez 10,0 mL de solution 1, 10,0 mL de solution 2 et complétez à 50,0 mL avec une solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*.

Colonne :

– *dimensions* : 1 = 0,25 m, Ø = 4,6 mm.

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

- *phase stationnaire* : gel de silice octadécylsilylé à noyau solide pour chromatographie R (5 µm)².
- *température* : 30 °C.

Phase mobile :

- *phase mobile A* : solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*.
- *phase mobile B* : *acétonitrile R*.

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent <i>V/V</i>)	Phase mobile B (pour cent <i>V/V</i>)
0 - 10	93	7
10 - 17	93 → 90	7 → 10
17 - 20	90	10
20 - 21	90 → 10	10 → 90
21 - 26	10	90
26 - 27	10 → 93	90 → 7
27 - 30	93	7

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre réglé à 256 nm.

Injection : 20 µL.

Enregistrement : 21 min.

Temps de rétention relatif par rapport à l'acide chlorogénique : dérivé de l'acide dihydroxybenzoïque = environ 0,3 ; acide dihydroxybenzoïque = environ 0,4 ; acide cafïique = environ 1,4.

Conformité du système : solution témoin.

- *résolution* : au minimum 3 entre les pics dus à l'acide chlorogénique et l'acide cafïique.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en acides phénols, exprimés en acide chlorogénique à l'aide de l'expression :

$$\frac{A_1}{A_2} \times \frac{m_1 \times 10}{100 \times 50} \times \frac{20}{m_2} \times 100 \times \frac{p}{100} = \frac{A_1 \times m_1}{A_2 \times m_2} \times 0,04 \times p$$

² Colonne Kinetex : Phenomenex référence 00G-4601-E0 convient

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

A_1 = somme des aires des pics correspondant à l'acide chlorogénique, l'acide dihydroxybenzoïque et le dérivé de l'acide dihydroxybenzoïque dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

A_2 = aire du pic correspondant à l'acide chlorogénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,

m_2 = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes,

m_1 = masse de la prise d'essai d'acide chlorogénique, en grammes,

p = teneur pour cent en acide chlorogénique dans l'*acide chlorogénique R*.

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 0,0040 pour cent m/m de vitexine-2" rhamnoside ($C_{27}H_{30}O_{14}$; M_r 578,5).

CARACTÈRES

Aspect : liquide brun.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin (a). Dissolvez 5 mg d'*hypéroside R* dans 60 mL de *méthanol R*.

Solution témoin (b). Dissolvez 2 mg de *quercitroside R* dans 60 mL de *méthanol R*.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM *R*.

Phase mobile : eau *R*, acide formique anhydre *R*, acétate d'éthyle *R* (10:10:80 *V/V/V*).

Dépôt : 10 µL, en bandes de 10 mm.

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

Développement : sur un parcours de 7 cm.

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez une *solution de réactif de pulvérisation pour produits naturels 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 minutes. Examinez en lumière ultraviolette à 365nm.

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	
Solution témoin	Solution à examiner
Quercitroside : une bande orangée ----- Hypéroside : une bande orangée -----	Une bande bleu-vert (baie) Une bande bleu-vert (baie et sommité fleurie) ----- Une bande bleue à bleu-vert (sommité fleurie) Une bande orangée (baie et sommité fleurie) Une bande verte (sommité fleurie) Une bande orangée peut apparaître (sommité fleurie) Une à deux bandes vertes (sommité fleurie) -----

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

Chromatographie liquide (2.2.29).

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

Solution à examiner. Dans une fiole jaugée de 20,0 mL, introduisez 5,000 g de teinture mère de *Crataegus oxyacantha* et complétez à 20,0 mL une solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*. Filtrez la solution sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,2 µm).

Solution témoin. Dans une fiole jaugée de 100,0 mL, dissolvez 20,0 mg de *vitexine-2" rhamnoside R* dans du *méthanol R* et complétez à 100,0 mL avec le même solvant (solution 1). Dans une fiole jaugée de 50,0 mL, dissolvez 18,0 mg d'*hypéroside R* dans de l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 50,0 mL avec le même solvant (solution 2). Dans une fiole jaugée de 50,0 mL, introduisez 10,0 mL de solution 1 et 5,0 mL de solution 2, complétez à 50,0 mL avec une solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*.

Colonne :

- *dimensions* : l = 0,15 m, Ø = 4,6 mm,
- *phase stationnaire* : *gel de silice octadécylsilylé à noyau solide pour chromatographie R* (2,6 µm)³,
- *température* : 30°C.

Phase mobile :

- *phase mobile A* : solution d'*acide phosphorique R* à 0,2 pour cent *V/V*,
- *phase mobile B* : *acétonitrile R*,

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent <i>V/V</i>)	Phase mobile B (pour cent <i>V/V</i>)
0 - 10	92	8
10 - 17	92 → 90	8 → 10
17 - 20	90	10
20 - 37	90 → 85	10 → 15
37 - 41	85	15
41 - 42	85 → 5	15 → 95
42 - 43	5 → 92	95 → 8
43 - 51	92	8

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre réglé à 355 nm.

Injection : 20 µL.

Enregistrement : 42 min.

³ Colonne Kinetex : Phenomenex référence 00F-4462-E0 convient

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

Temps de rétention : vitexine-2" rhamnoside = environ 33,6 min ; hypéroside = environ 35,9 min.

Conformité du système : solution témoin.

- résolution : au minimum 2 entre les pics dus à la vitexine-2" rhamnoside et à l'hypéroside.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en vitexine-2" rhamnoside à l'aide de l'expression :

$$\frac{A_1}{A_2} \times \frac{m_1 \times 10}{100 \times 50} \times \frac{20}{m_2} \times 100 \times \frac{p}{100} = \frac{A_1 \times m_1}{A_2 \times m_2} \times 0,04 \times p$$

A₁ = aire du pic correspondant à la vitexine-2" rhamnoside dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

A₂ = aire du pic correspondant à la vitexine-2" rhamnoside dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,

m₂ = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes,

m₁ = masse de la prise d'essai de vitexine-2" rhamnoside, en grammes,

p = teneur pour cent en vitexine-2" rhamnoside dans la *vitexine-2" rhamnoside R*.

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