

1 **NOTE TECHNIQUE PRO PHARMACOPOEA N° 1270 (rév. 11^{ème})**

2
3 NOTE RELATIVE A LA MONOGRAPHIE

4
5 *La teneur en dérivés hydroxycinnamiques totaux exprimés en acide chlorogénique est modifiée.*

6
7
8
9
10
11 **CLÉMATITE VIGNE BLANCHE**

12 **POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES**

13
14 **CLEMATIS VITALBA**

15 **POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES**

16
17 **Clematis vitalba ad praeparationes homoeopathicas**

18
19
20 DÉFINITION

21 Jeune rameau feuillé, fleuri, frais, de *Clematis vitalba* L.

22
23
24
25 IDENTIFICATION

- 26
27 A. Jeune rameau sarmenteux, à section pleine ; feuilles composées imparipennées divisées en
28 3 à 9 folioles ordinairement entières, lancéolées à l'apex et en forme de cœur renversé à
29 la base ; chaque foliole peut atteindre 7 à 8 cm de longueur et 5 cm de largeur ; fleurs,
30 groupées en panicules à l'extrémité du rameau, possédant 4 sépales pétaloïdes blancs,
31 tomenteux sur les 2 faces ; nombreuses étamines ; carpelles libres et insérés sur un
32 réceptacle convexe et velu.
- 33
34 B. Examinez au microscope un fragment d'épiderme inférieur de la feuille, en utilisant de la
35 *solution d'hydrate de chloral R* : épiderme du limbe formé de cellules à contours sinueux et
36 de nombreux stomates de type anomocytique (2.8.3) ; épiderme des nervures comprenant
37 des cellules parallélipédiques à rectangulaires, allongées dans le sens de la nervure, de
38 rares poils tecteurs (environ 500 µm de long) unicellulaires, raides, à parois épaissies et
39 extrémité effilée, et de très rares poils sécréteurs, en massue, unicellulaire (environ 100 µm)
40 entourés à la base d'une rosette de cellules annexes.

41
42
43 ESSAI

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

45 **Perte à la dessiccation** (2.2.32) : au minimum 55,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C
46 pendant 2 h, sur 5,0 g de drogue pulvérisée.

47
48 *Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le*
49 *préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.*

Pharmacopée française

50 **Clematis recta.** La présence de tiges creuses à l'intérieur et de folioles obovales, vertes au-
 51 dessus et glauques en dessous, signale une falsification par *Clematis recta* L.

52

53

54

55

SOUCHE

56

DÉFINITION

57

58

59

Teinture mère de clématite vigne blanche préparée à la teneur en éthanol de 65 pour cent V/V, à
 60 partir du jeune rameau feuillé, fleuri, frais, de *Clematis vitalba* L.

61

62

Teneur : au minimum 0,10 ~~0,15~~ pour cent *m/m* de dérivés ortho-dihydroxycinnamiques
 62 totaux, exprimés en acide chlorogénique ($C_{16}H_{18}O_9$; M_r 354,3).

63

64

65

PRODUCTION

66

67

Méthode 1.1.10 (2371). Drogue coupée en fragments de 4 à 5 cm environ. Durée de macération :
 68 3 à 5 semaines.

69

70

71

CARACTÈRES

72

73

Aspect : liquide brun-vert.

74

75

76

IDENTIFICATION

77

78

Examinez les chromatogrammes obtenus dans l'essai Teinture mère de *Clematis recta*.

79

80

Détection A : examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

81

82

83

84

85

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

86

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande bleue	Une bande rouge Une bande bleue
----- Acide chlorogénique : une bande bleue	-----
-----	----- Quatre bandes bleues
Solution témoin	Solution à examiner

87

88

Détection B : voir essai Teinture mère de *Clematis recta*.

89

90

91

Résultats B : voir ci-dessous la séquence des bandes fluorescentes présentes dans les
 90 chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs,

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

Pharmacopée française

92 d'autres bandes fluorescentes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme
 93 obtenu avec la solution à examiner.
 94

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande bleu-vert -----	Une bande bleu-vert -----
Acide chlorogénique : une bande bleu-vert -----	Une bande bleu-vert -----
	Une bande jaune-vert Trois bandes bleu-vert
Solution témoin	Solution à examiner

95

96

97 **ESSAI**

98

99

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

100

101

Résidu sec (2.8.16) : au minimum 1,0 pour cent *m/m*.

102

103

Teinture mère de Clematis recta.

104

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

105

Solution à examiner. Teinture mère.

106

Solution témoin. Dissolvez 10 mg d'*acide chlorogénique R* et 10 mg d'*acide caféique R* dans de l'*éthanol à 96 pour cent R* et complétez à 40 mL avec le même solvant.

107

108

109

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R

110

(2-10 µm)].

111

112

Phase mobile : eau R, méthanol R, acide acétique glacial R, chlorure de méthylène R

113

(2:3:8:15 V/V/V/V).

114

115

Dépôt : 20 µL [ou 10 µL], en bandes.

116

117

Développement : sur un parcours de 10 cm [ou 7 cm].

118

119

Séchage : à l'air.

120

121

Détection : pulvérisez une solution de *diphénylborate d'aminoéthanol R* à 10 g/L dans du

122

méthanol R. Pulvérisez ensuite une solution de *macrogol 400 R* à 50 g/L dans le *méthanol R*.

123

Laissez sécher la plaque pendant 30 min environ. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

124

125

L'absence de la bande jaune-vert et des trois bandes bleu-vert situées en dessous de la bande

126

de l'acide chlorogénique dans la solution à examiner, signale une falsification par la teinture

127

mère *Clematis recta* L.

128

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

Pharmacopée française

129
130 **Protoanémone** : au maximum 0,1 pour cent *m/m* de protoanémone, exprimée en
131 α -angéicalactone (C₅H₆O₂ ; M_r 98,1).

132
133 Chromatographie liquide (2.2.29).

134
135 *Effectuez l'essai à l'abri d'une lumière vive et protégez les solutions de la lumière actinique.*

136
137 *Solution à examiner.* Prélevez 2,000 g de teinture mère et complétez à 50,0 mL avec de
138 l'eau R.

139
140 *Solution témoin.* Dissolvez 60,0 mg d' α -angéicalactone R dans 50,0 mL de méthanol R ⁽¹⁾.
141 Prélevez 5,0 mL de cette solution et complétez à 50,0 mL avec de l'eau R ⁽²⁾.

142
143 *Colonne :*

- 144 – *dimensions* : *l* = 0,25 m, \varnothing = 4,6 mm,
- 145 – *phase stationnaire* : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 μ m).
- 146 – *température* : 30 °C.

147
148 *Phase mobile :*

- 149 – *phase mobile A* : eau R,
- 150 – *phase mobile B* : acétonitrile R

151
152

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 1	90	10
1 - 31	90 → 80	10 → 20
31 - 36	90 → 0	20 → 100
36 - 46	0	100

153
154 *Débit* : 1,0 mL/min

155
156 *Détection* : spectrophotomètre réglé à 220 nm (α -angéicalactone) et 258 nm
157 (protoanémone).

158
159 *Injection* : 20 μ L.

160
161 *Temps de rétention* : protoanémone : environ 11 min ; α -angéicalactone : environ 13 min.

162
163

164
165

166

167 ⁽¹⁾ cette solution est stable pendant une semaine

168 ⁽²⁾ cette solution est stable pendant 10 h

169

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

Pharmacopée française

170

171 Calculez la teneur pour cent m/m en protoanémonine, exprimée en α -angélicactone, de la
172 teinture mère, à l'aide de l'expression :

173

174

175

176

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 10}$$

177

178

179 A_1 = aire du pic correspondant à la protoanémonine dans le chromatogramme obtenu avec la
180 solution à examiner,

181 A_2 = aire du pic correspondant à l' α -angélicactone dans le chromatogramme obtenu avec la
182 solution témoin,

183 m_1 = masse de la prise d'essai de teinture mère dans la solution à examiner, en grammes,

184 m_2 = masse de la prise d'essai d' α -angélicactone dans la solution témoin, en grammes.

185 p = teneur pour cent en α -angélicactone dans l' α -angélicactone R.

186

187

188 DOSAGE

189

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

191

192 *Solution mère.* Prélevez 3,000 g de teinture mère et complétez à 50,0 mL avec de l'éthanol à
193 60 pour cent V/V R.

194

195 *Solution à examiner.* Additionnez successivement, en agitant après chaque ajout, 2,0 mL de
196 solution mère, 4,0 mL d'acide chlorhydrique 0,5 M, 4,0 mL d'une solution contenant 100 g/L de
197 nitrite de sodium R et 100 g/L de molybdate de sodium R, 4,0 mL de solution diluée d'hydroxyde
198 de sodium R et complétez à 20,0 mL avec de l'eau R.

199

200 *Liquide de compensation de la solution à examiner.* Additionnez 2,0 mL de solution mère,
201 4,0 mL d'acide chlorhydrique 0,5 M, 4,0 mL de solution diluée d'hydroxyde de sodium R et
202 complétez à 20,0 mL avec de l'eau R.

203

204 *Solution témoin mère.* Dissolvez 14 mg d'acide chlorogénique R dans quelques millilitres
205 d'éthanol à 60 pour cent V/V R puis complétez à 100,0 mL avec le même solvant.

206

207 *Solution témoin.* Additionnez successivement, en agitant après chaque ajout, 2,0 mL de solution
208 témoin mère, 4,0 mL d'acide chlorhydrique 0,5 M, 4,0 mL d'une solution contenant 100 g/L de
209 nitrite de sodium R et 100 g/L de molybdate de sodium R, 4,0 mL de solution diluée d'hydroxyde
210 de sodium R et complétez à 20,0 mL avec de l'eau R.

211

212 *Liquide de compensation de la solution témoin.* Additionnez 2,0 mL de solution témoin mère,
213 4,0 mL d'acide chlorhydrique 0,5 M, 4,0 mL de solution diluée d'hydroxyde de sodium R et
214 complétez à 20,0 mL avec de l'eau R.

215

216 Immédiatement après l'ajout du dernier réactif, mesurez l'absorbance de la solution à examiner
217 et de la solution témoin à 530 nm, en utilisant les liquides de compensation correspondants.

218

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

Pharmacopée française

219

220 Calculez la teneur pour cent m/m en dérivés ortho-dihydroxycinnamiques totaux, exprimés en
221 acide chlorogénique, à l'aide de l'expression :

222

223

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 0,5 \times \rho}{A_2 \times m_1}$$

224

225

226 A_1 = absorbance de la solution à examiner,

227 A_2 = absorbance de la solution témoin,

228 m_1 = masse de la prise d'essai de teinture mère, en grammes,

229 m_2 = masse de la prise d'essai d'acide chlorogénique, en grammes,

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

231

232

233

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

Pharmacopée française