GATTILIER
POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

AGNUS CASTUS
POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

Vitex agnus castus ad praeparationes homoeopathicas

DÉFINITION

Fruit séché de *Vitex agnus castus* L.

Teneur : au minimum 0,05 pour cent d'aucubine ($C_{15}H_{22}O_9$; M_r 346,3) (drogue desséchée).

CARACTÈRES

Caractères macroscopiques et microscopiques décrits aux identifications A et B.

IDENTIFICATION

A. Le gattilier est une drupe sphérique d'environ 0,5 cm de diamètre, brun-rouge. La base du fruit est entourée sur 2/3 de sa hauteur par le calice persistant, à 5 dents courtes. La cicatrice du style est souvent visible. Le fruit est constitué d'un péricarpe sec et ridé, et d'un endocarpe scléreux. Le noyau est quadriloculaire. Chaque loge contient une graine à albumen peu important, entourant un embryon dressé, à radicule peu développée.

B. Réduisez le gattilier en poudre (355). La poudre est gris-brun. Examinez au microscope en utilisant la *solution d'hydrate de chloral R*. La poudre présente les éléments suivants : des cellules scléreuses provenant de la zone endocarpique, isolées ou en amas, ovoïdes à rectangulaires, à parois fortement épaissies et canaliculées ; des fragments d'épiderme du calice persistant recouverts de poils tecteurs unicellulaires à extrémité effilée, et de rares poils sécréteurs à pied unicellulaire et à tête pluricellulaire arrondie ; des fragments d'albumen de la graine, riches en gouttelettes huileuses ; de rares vaisseaux de bois spiralés.

C. Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).

Solution à examiner. Agitez, pendant 15 min, 3 g de drogue pulvérisée (355) dans 30 mL d'*éthanol à 60 pour cent V/V R*. Filtrez.

Solution témoin. Dissolvez 10 mg d'*aucubine R* et 10 mg d'*harpagoside R* dans 40 mL de *méthanol R*.

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

Phase mobile : *méthanol R*, *eau R, butanol R* (5:20:70 *V/V/V*).

Dépôt : 40 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 15 cm.

Séchage : à l'air.

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

Détection : pulvérisez un mélange de 10 mL d'une solution de *phloroglucinol R* à 250 g/L dans le *méthanol R* et de 10 mL d'une solution d'*acide chlorhydrique R* à 25 pour cent *V/V* dans le *méthanol R.* Chauffez à 100-105 °C pendant 5 à 10 min. Examinez à la lumière du jour.
Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
	Une bande brune (agnuside)
Harpagoside : une bande brune	
---	---
Aucubine : une bande brune	Une bande brune (aucubine)
---	---
Solution témoin	**Solution à examiner**

D. Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).

Solution à examiner. Agitez, pendant 15 min, 3 g de drogue pulvérisée (355) dans 30 mL d'*éthanol à 60 pour cent V/V R*. Filtrez.

Solution témoin. Dissolvez 10 mg d'*isoorientine R*, 10 mg d'*isovitexine R* et 10 mg de *lutéoline-7-glucoside R* dans 40 mL d'*éthanol à 96 pour cent R*.

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

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

Dépôt : 40 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 10 cm.

Séchage : à l'air.

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 pendant 30 min environ. 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	
	Une bande orangée
---	---
Lutéoline-7-glucoside : une bande orangée	Une bande orangée (lutéoline-7-glucoside)
Isovitexine : une bande jaune-vert	Une bande jaune-vert (isovitexine)
Isoorientine : une bande orangée	Une bande orangée (isoorientine)
---	---
	Une bande orangée
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

Perte à la dessiccation *(2.2.32)* : au maximum 10,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C, pendant 2 h, sur 1,0 g de drogue pulvérisée (355).

Cendres totales *(2.4.16)* : au maximum 8,0 pour cent, déterminé sur 1,0 g de drogue pulvérisée (355).

DOSAGE

Chromatographie liquide *(2.2.29).*

Solution à examiner. Dans un ballon, introduisez 1,00 g de drogue pulvérisée (355) et ajoutez 100 mL de *méthanol R*. Agitez pendant 30 min. Filtrez. Reprenez le résidu avec 100 mL de *méthanol R* et traitez 2 fois comme précédemment. Réunissez les filtrats. Évaporez à siccité sous pression réduite à une température inférieure à 40 °C. Reprenez le résidu avec 20 mL d'un mélange de 1 volume d'*eau R* et de 2 volumes de *méthanol R*. Déposez quantitativement cette solution sur une colonne d'*oxyde d'aluminium neutre R* d'environ 10 cm de hauteur et 1,2 cm de diamètre. Éluez avec le même solvant jusqu'à obtention de 150 mL, en s'aidant du vide. Transvasez quantitativement dans un ballon à col rodé de 250 mL et concentrez l'éluat, sous pression réduite, jusqu'à 15 mL environ. Introduisez la solution concentrée dans une fiole jaugée de 50,0 mL. Rincez le ballon avec 2 fois 10 mL d'*eau R* et ajoutez les solutions de rinçage dans la fiole jaugée. Ajoutez ensuite, 1,5 mL d'*acétonitrile R* et complétez avec de l'*eau R*.

Solution témoin. Dans une fiole jaugée de 100,0 mL, dissolvez 0,020 g d'*aucubine R* dans 50 mL de phase mobile et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 10,0 mL de solution et complétez à 100,0 mL avec la phase mobile.

Colonne :
- *dimensions* : *l* = 0,25 m, *Ø* = 4,6 mm,
- *phase stationnaire* : *gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R* (5 µm).

Phase mobile : acétonitrile R, eau R (3:97 *V/V*).

Débit : 0,5 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 204 nm.

Injection : 10 µL.

Conformité du système : solution témoin et solution à examiner.
- *Temps de rétention de l'aucubine* : environ 18 min.
- *Facteur de symétrie* : 0,8 à 1,5.

Calculez la teneur pour cent en aucubine, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 5}{A_2 \times m_1}$$

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

A_1 = aire du pic de l'aucubine dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
A_2 = aire du pic de l'aucubine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,
m_1 = masse de la prise d'essai de la drogue desséchée, en grammes,
m_2 = masse d'aucubine dans la solution témoin, en grammes.

SOUCHE

DÉFINITION

Teinture mère de gattilier préparée à la teneur en éthanol de 65 pour cent *V/V*, à partir du fruit séché de *Vitex agnus castus L*., selon la technique générale de préparations des teintures mères (voir la monographie *Préparations homéopathiques (1038)* et la Précision complémentaire de l'Autorité française de Pharmacopée).

Teneur : au minimum 0,004 pour cent *m/m* d'aucubine ($C_{15}H_{22}O_9$; M_r 346,3).

CARACTERES

Aspect : liquide jaune clair.

IDENTIFICATION

A. Chromatographie sur couche mince *(2.2.27).*

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin. Dissolvez 10 mg d'*aucubine R* et 10 mg d'*harpagoside R* dans 40 mL de *méthanol R*.

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

Phase mobile : *méthanol R*, *eau R, butanol R* (5:20:70 *V/V/V*).

Dépôt : 40 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 15 cm.

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez un mélange de 10 mL d'une solution de *phloroglucinol R* à 250 g/L dans le
méthanol R et de 10 mL d'une solution d'*acide chlorhydrique R* à 25 pour cent *V/V* dans le *méthanol R*. Chauffez à 100-105 °C pendant 5 à 10 min. Examinez à la lumière du jour.

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

Haut de la plaque	
Harpagoside : une bande brune	Une bande brune (agnuside)

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

------	------
Aucubine : une bande brune	Une bande brune (aucubine)
------	------
Solution témoin	**Solution à examiner**

B. Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).

Solution à examiner. Teinture mère.

Solution témoin. Dissolvez 10 mg d'*isoorientine R*, 10 mg d'*isovitexine R* et 10 mg de *lutéoline-7-glucoside R* dans 40 mL d'*éthanol à 96 pour cent R*.

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

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

Dépôt : 40 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 10 cm.

Séchage : à l'air.

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 pendant 30 min environ*.* 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	
	Une bande orangée
------	------
Lutéoline-7-glucoside : une bande orangée	Une bande orangée (lutéoline-7-glucoside)
Isovitexine : une bande jaune-vert	Une bande jaune-vert (isovitexine)
Isoorientine : une bande orangée	Une bande orangée (isoorientine)
------	------
	Une bande orangée
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 0,3 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 un ballon à col rodé, pesez exactement une prise d'essai voisine de 10,0 g de teinture mère. Évaporez à siccité sous pression réduite à une température inférieure à 40 °C. Reprenez le résidu avec 20 mL d'un mélange de 1 volume d'*eau R* et de 2 volumes de *méthanol R*. Déposez quantitativement cette solution sur une colonne d'*oxyde d'aluminium neutre R* d'environ 10 cm de hauteur et 1,2 cm de diamètre. Éluez avec le même solvant jusqu'à obtention de 150 mL, en s'aidant du vide ou de la pression. Transvasez quantitativement dans un ballon à col rodé de 250 mL et concentrez l'éluat, sous pression réduite, jusqu'à 15 mL environ. Introduisez la solution concentrée dans une fiole jaugée de 50,0 mL. Rincez le ballon avec 2 fois 10 mL d'*eau R* et ajoutez les solutions de rinçage dans la fiole jaugée. Ajoutez, ensuite, 1,5 mL d'*acétonitrile R* et complétez avec de l'*eau R*.

Solution témoin. Dans une fiole jaugée de 100,0 mL, dissolvez 0,020 g d'*aucubine R* dans 50 mL de phase mobile et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 10,0 mL de solution et complétez à 100,0 mL avec la phase mobile.

Colonne :
- *dimensions* : *l* = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,
- *phase stationnaire* : *gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R* (5 µm).

Phase mobile : *acétonitrile R, eau R* (3:97 *V/V*).

Débit : 0,5 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 204 nm.

Injection : 10 µL.

Conformité du système : solution témoin et solution à examiner.
- *Temps de rétention de l'aucubine* : environ 18 min.
- *Facteur de symétrie* : 0,8 à 1,5.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en aucubine, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 5}{A_2 \times m_1}$$

A_1 = aire du pic de l'aucubine dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
A_2 = aire du pic de l'aucubine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,
m_1 = masse de la prise d'essai, en grammes,
m_2 = masse d'aucubine dans la solution témoin, en grammes.