

## GUACO POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

*Mikania guaco* ad praeparationes homoeopathicas

### DÉFINITION

Feuille séchée de *Mikania guaco* H et B. (*Mikania amara* Willd.)

*Teneur* : au minimum 0,1 pour cent de coumarine (C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> ; M<sub>r</sub> 146,1) (drogue desséchée).

### CARACTÈRES

Caractères macroscopiques et microscopiques décrits aux identifications A et B.

### IDENTIFICATION

- A. La feuille de guaco est simple, ovale, acuminée au sommet, arrondie à la base, à marge entière, coriace, glabre au-dessus à légèrement pubescente. Les nervures sont proéminentes sur la face inférieure, 2 à 4 nervures secondaires partent de la base du limbe. La feuille mesure de 16 cm à 24 cm de long sur 11 cm de large. Le pétiole, de 5 cm de long est circulaire, glabre ou pubescent.
- B. Réduisez la drogue en poudre (355). La poudre est brune. Examinez au microscope en utilisant de la *solution d'hydrate de chloral R*. La poudre présente les éléments suivants : fragments d'épiderme inférieur de limbe de la feuille, à cellules lobées ou polyédriques, poils sécréteurs et stomates anisocytiques (2.8.3), accompagné de parenchyme lacuneux ; fragments d'épiderme supérieur du limbe recouvert d'une cuticule lisse, à cellules lobées ou polyédriques et poils sécréteurs, accompagné par du parenchyme palissadique ; des fragments de nervures des feuilles à vaisseaux spiralés ou annelés. Les poils sécréteurs sont de deux types : les uns, à pied pluricellulaire et à tête unicellulaire contournée, les autres, sessiles, à tête pluricellulaire bisériée.
- C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

*Solution à examiner.* À 3 g de drogue pulvérisée (355), ajoutez 30 mL d' *éthanol à 65 pour cent V/V R*. Couvrez. Chauffez au bain-marie à 60 °C pendant 15 min. Laissez refroidir. Filtrez.

*Solution témoin.* Dissolvez 1 mg de *scopolétine R* et 1 mg de *coumarine R* dans 10 mL d'*éthanol à 96 pour cent R*.

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

*Phase mobile* : phase supérieure du mélange *acide acétique dilué R, éther R, toluène R* (10:50:50 V/V/V).

*Dépôt* : 5 µL, en bandes.

*Développement* : sur un parcours de 10 cm.

---

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

*Séchage* : à l'air.

*Détection* : pulvérisez une solution d'hydroxyde de potassium R à 100 g/L dans le méthanol R. 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	
----- Coumarine : une bande bleu-vert -----	----- Une bande bleu-vert (coumarine) -----
----- Scopolétine : une bande bleu clair -----	----- Une bande bleu-vert -----
<b>Solution témoin</b>	<b>Solution à examiner</b>

ESSAI

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

**Perte à la dessiccation** (2.2.32) : au maximum 12,0 pour cent, déterminée à l'étuve à 105 °C pendant 2 h, sur 1,000 g de drogue pulvérisée (355).

**Cendres totales** (2.4.16) : au maximum 12,0 pour cent.

**Acide aristolochique.**

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

*Solution à examiner.* À 3 g de drogue pulvérisée (355), ajoutez 10 mL d'éthanol à 65 pour cent V/V R. Couvrez. Chauffez au bain-marie à 60 °C pendant 15 min. Laissez refroidir. Filtrez.

*Solution témoin.* Dissolvez 5 mg d'acide aristolochique R1 dans de l'éthanol à 96 pour cent R et complétez à 20 mL avec le même solvant.

*Plaque* : plaque au gel de silice  $F_{254}$  pour CCM R.

*Phase mobile* : acétone R, méthanol R, chloroforme R (10:10:60 V/V/V).

*Dépôt* : 20 µL, en bandes.

*Développement* : sur un parcours de 10 cm.

*Séchage* : à l'air.

*Détection A* : examinez en lumière ultraviolette à 254 nm.

*Résultats A* : voir ci-dessous la séquence des bandes d'atténuation de fluorescence présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Aucune bande correspondant à la bande d'acide aristolochique dans la solution témoin n'est présente dans

---

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

**Pharmacopée française 2003**

le chromatogramme de la solution à examiner.

Haut de la plaque	
-----	Une bande sombre
-----	Une bande sombre
-----	Absence de bande
Acide aristolochique : une bande sombre	
<b>Solution témoin</b>	<b>Solution à examiner</b>

*Détection B* : examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

*Résultats B* : voir ci-dessous la séquence des bandes fluorescentes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Aucune bande correspondant à la bande de l'acide aristolochique dans la solution témoin n'est présente dans le chromatogramme de 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 rouge Deux bandes bleues Une bande rougeâtre
-----	Une bande bleu-vert intense
-----	Absence de bande
Acide aristolochique : une bande brune	
<b>Solution témoin</b>	<b>Solution à examiner</b>

## DOSAGE

Chromatographie liquide (2.2.29).

*Solution à examiner.* À 1,500 g de guaco pulvérisé (355), ajoutez 45 mL d'éthanol à 65 pour cent V/V R et chauffez à reflux pendant 1 h. Laissez refroidir. Filtrez sur filtre en fibre de verre. Reprenez le résidu et le filtre fragmenté par 45 mL d'éthanol à 65 pour cent V/V R. Traitez comme précédemment. Réunissez les filtrats et complétez à 100,0 mL avec de l'éthanol à 65 pour cent V/V R.

*Solution témoin.* Dissolvez 15,0 mg de coumarine R dans l'éthanol à 65 pour cent V/V R et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 5,0 mL de cette solution et complétez à 20,0 mL avec l'éthanol à 65 pour cent V/V R.

*Colonne :*

- dimensions :  $l = 0,25 \text{ m}$ ,  $\varnothing = 4,0 \text{ mm}$ ,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5  $\mu\text{m}$ )
- température : 30 °C.

*Phase mobile :*

- phase mobile A : mélange de 1 volume d'acide acétique glacial R et de 40 volumes d'eau R,

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

– phase mobile B : méthanol R.

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 25	80	20
25 - 30	80 → 0	20 → 100
30 - 40	0	100

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 280 nm.

Injection : 10 µL.

Conformité du système : solution témoin.

- Temps de rétention : coumarine : environ 20 min.

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

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 25}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = aire du pic de la coumarine dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

$A_2$  = aire du pic de la coumarine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,

$M_1$  = masse de la prise d'essai de drogue, en grammes,

$m_2$  = masse de la prise d'essai de coumarine, en grammes.

## SOUCHE

### DÉFINITION

Teinture mère de guaco préparée à la teneur en éthanol de 65 pour cent V/V, à partir de la feuille séchée de *Mikania guaco* H. et B., 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 0,01 pour cent *m/m* de coumarine ( $C_9H_6O_2$ ;  $M_r$  146,1).

### CARACTÈRES

Aspect : liquide vert ocré.

### IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Teinture mère.

---

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

*Solution témoin.* Dissolvez 1 mg de *scopolétine R* et 1 mg de *coumarine R* dans 10 mL d'*éthanol à 96 pour cent R*.

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

*Phase mobile :* phase supérieure du mélange *acide acétique dilué R, éther R, toluène R* (10:50:50 V/V/V).

*Dépôt :* 5 µL, en bandes.

*Développement :* sur un parcours de 10 cm.

*Séchage :* à l'air.

*Détection :* pulvérisez une solution d'*hydroxyde de potassium R* à 100 g/L dans le *méthanol R*. 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	
----- Coumarine : une bande bleu-vert -----	Une bande bleu-vert (coumarine) -----  Une bande bleu-vert -----
Scopolétine : une bande bleu clair	
<b>Solution témoin</b>	<b>Solution à examiner</b>

## ESSAI

**Acide aristolochique :** absence.

Chromatographie liquide (2.2.29).

*Solution à examiner.* Teinture mère.

*Solution témoin.* Dissolvez 10,0 mg d'*acide aristolochique R1* dans du *méthanol R* et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 2,0 mL de cette solution et complétez à 20,0 mL avec du *méthanol R*.

*Colonne :*

- dimensions : l = 0,25 m, Ø = 4,0 mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm),
- température : 30 °C.

*Phase mobile :*

- phase mobile A : mélange de 1 volume d'*acide acétique glacial R* et de 40 volumes d'*eau R*,

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

– phase mobile B : méthanol R.

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 25	50 → 40	50 → 60
25 - 30	40 → 0	60 → 100
30 - 35	0	100

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à barrette de diodes à 250 nm.

Injection : 20 µL.

Ordre de sortie des pics : acide aristolochique II, acide aristolochique I.

Conformité du système : solution témoin.

- Résolution : au minimum 5 entre les pics de l'acide aristolochique II et de l'acide aristolochique I.
- Seuil de détection: 1 ppm pour la somme des pics de l'acide aristolochique II et de l'acide aristolochique I.
- Rapport signal/bruit : supérieur à 3 pour une concentration de 1 ppm en acide aristolochique R1.

Tracez le spectre d'absorption de 220 nm à 450 nm du pic correspondant à l'acide aristolochique I et celui du pic correspondant à l'acide aristolochique II dans la solution témoin.

Si un (ou des) pic(s) est (sont) présent(s) au(x) temps de rétention du (des) pic(s) correspondant à l'acide aristolochique I et/ou à l'acide aristolochique II de la solution témoin sur le chromatogramme de la solution à examiner et présente(nt) une surface égale ou supérieure à 0,1 fois celle des pics respectifs de la solution témoin, tracez le spectre d'absorption de 220 nm à 450 nm de ce(s) pic(s). Les spectres des pics obtenus avec la solution à examiner ne doivent pas être superposables aux spectres des pics de l'acide aristolochique I et/ou de l'acide aristolochique II de la solution témoin.

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

**Résidu sec (2.8.16)** : au minimum 0,5 pour cent m/m.

## DOSAGE

Chromatographie liquide (2.2.29).

**Solution à examiner.** Prélevez 3,000 g de teinture mère et complétez à 20,0 mL avec de l'éthanol à 65 pour cent V/V R.

**Solution témoin.** Dissolvez 15,0 mg de coumarine R dans l'éthanol à 65 pour cent V/V R et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 5,0 mL de cette solution et complétez à 20,0 mL avec l'éthanol à 65 pour cent V/V R.

**Colonne :**

- dimensions : l = 0,25 m, Ø = 4,0 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 pour chromatographie R (5 µ m ) ,
- température : 30 °C.

Phase mobile :

- phase mobile A : mélange de 1 volume d'acide acétique glacial R et de 40 volumes d'eau R,
- phase mobile B : méthanol R.

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 25	80	20
25 - 30	80 → 0	20 → 100
30 - 40	0	100

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 280 nm.

Injection : 10 µL.

Conformité du système : solution témoin.

- Temps de rétention : coumarine : environ 20 min.

Calculez la teneur pour cent *m/m* de coumarine de la teinture mère, à l'aide de l'expression :

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

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

---

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