

EXTRAIT DE BILE DE BŒUF

Extractum fellis bovis

L'extrait de bile de bœuf contient au minimum 45,0 pour cent et au maximum 55,0 pour cent d'acides biliaires libres et conjugués exprimés en acide cholique ($C_{24}H_{40}O_5$ M_r 408,6), calculé par rapport à la substance desséchée.

CARACTÈRES

Poudre hygroscopique de couleur plus ou moins foncée, beige à verdâtre, facilement soluble dans l'eau. La solution aqueuse à 10 pour cent, complète, peut présenter une opalescence.

IDENTIFICATION

Opérez par chromatographie sur couche mince (2.2.27) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Dissolvez 0,100 g d'extrait de bile de bœuf dans du *méthanol R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez sur la plaque 10 μ L de la solution à examiner. Développez sur un parcours de 15 cm avec un mélange de 5 volumes d'*eau R*, de 50 volumes de *toluène R* et de 55 volumes d'*acide acétique R*. Séchez la plaque à l'étuve à 100-105 °C pendant 10 min. Laissez refroidir. Pulvérisez une solution préparée de la manière suivante : dissolvez 0,50 g de *molybdate d'ammonium R* dans 4 mL d'*acide sulfurique R* à 50 pour cent V/V ; ajoutez un copeau de *cuivre R* et laissez 2 h en contact, en agitant de temps en temps ; retirez le copeau, ajoutez 80 mL d'*eau R* et 6,5 mL d'*acide sulfurique R*. Après pulvérisation, séchez la plaque à l'étuve à 100-105 °C pendant 10 min. Le chromatogramme obtenu présente au moins 6 taches distinctes, de couleur variant du jaune au bleu violacé (acides biliaires libres et conjugués).

ESSAI

Détermination du pH (2.2.3). Dissolvez 0,200 g d'extrait de bile de bœuf dans de l'*eau exempte de dioxyde de carbone R* et complétez à 20 mL avec le même solvant. Le pH de la solution est de 5,0 à 7,0.

Substances insolubles dans l'éthanol à 80 pour cent V/V R. Dissolvez 5,00 g d'extrait de bile de bœuf dans de l'*éthanol à 80 pour cent V/V R* et complétez à 100 mL avec le même solvant. Chauffez à reflux pendant 10 min et filtrez à chaud sur un filtre en verre fritté (16) préalablement taré. Lavez le résidu avec 3 fois 20 mL d'*éthanol à 80 pour cent V/V R*. Séchez le filtre à l'étuve à 100-105 °C pendant 1 h et pesez. La masse du résidu, calculée par rapport à la substance desséchée, n'est pas supérieure à 0,100 g (2,0 pour cent).

Sucres réducteurs après hydrolyse. Dissolvez 50 mg d'extrait de bile de bœuf dans l'*eau R* et complétez à 5 mL avec le même solvant. Ajoutez 0,10 mL d'*acide sulfurique R* et chauffez au bain-marie pendant 15 min. Alcalinisez avec une *solution d'hydroxyde de sodium R* à 10 pour cent V/V jusqu'à obtention d'une solution limpide. Ajoutez 2 mL en excès puis 2 mL de

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

solution de sulfate de cuivre R à 10 pour cent *m/V*. Chauffez à l'ébullition pendant 1 min. La solution ne se décolore pas et ne donne pas de précipité rouge d'oxyde cuivreux.

Cholestérol.

Solution à examiner. Introduisez dans une ampoule à décantation 0,350 g d'extrait de bile de bœuf. Ajoutez 5 mL d'*eau R* puis 40 mL de *solution d'hydroxyde de sodium R* à 0,5 pour cent *m/V* dans l'*éthanol* à 60 pour cent *V/V R* et 50 mL d'*éther R*. Agitez pendant 1 min, laissez reposer et éliminez la couche inférieure. Ajoutez 50 mL d'*éther de pétrole R* et agitez énergiquement. Soutirez soigneusement la couche inférieure en ayant soin de bien détacher les gouttelettes adhérant aux parois. Recueillez la couche éthérée dans une capsule ; rincez l'ampoule avec 10 mL d'*éther R* et éliminez le solvant par chauffage au bain-marie. Reprenez le résidu par du *chloroforme R* et complétez à 20,0 mL avec le même solvant. À 5,0 mL de solution chloroformique, ajoutez 2 mL d'un mélange de 2,5 volumes d'*acide sulfurique R* et de 20 volumes d'*anhydride acétique R*.

Solution témoin. Dissolvez 0,6 mg de *cholestérol R* dans du *chloroforme R* et complétez à 5,0 mL avec le même solvant.

Laissez reposer à l'obscurité pendant 25 min. Mesurez l'absorbance (2.2.25) des deux solutions à 630 nm en utilisant comme liquide de compensation le *chloroforme R*. En tenant compte des absorbances mesurées et de la concentration des solutions, calculez la teneur en cholestérol, qui n'est pas supérieure à 0,7 pour cent, calculée par rapport à la substance desséchée.

Formaldéhyde.

Solution à examiner. Introduisez 0,50 g d'extrait de bile de bœuf et 100 mL d'*eau R* dans un ballon rodé de 1 000 mL possédant une tubulure latérale. Montez sur ce ballon une colonne de distillation munie d'un réfrigérant descendant terminé par un tube dont l'extrémité plonge dans une fiole jaugée de 200 mL contenant 50 mL d'*eau R*, le corps de la fiole étant placé dans un bain de glace. Ajoutez 10 mL d'*acide sulfurique 0,5 M* et laissez en contact pendant 30 min. Faites barboter lentement dans le ballon par la tubulure latérale un courant de *dioxyde de carbone R* et portez à l'ébullition. Distillez environ 50 mL. Complétez à 200,0 mL avec de l'*eau R*. Prélevez 10,0 mL de cette solution et complétez à 50,0 mL avec de l'*eau R*.

Solution témoin. À 5,0 mL de *formaldéhyde R*, ajoutez de l'*eau R* et complétez à 1000,0 mL avec le même solvant (solution(a)). Déterminez la concentration en formaldéhyde, en milligramme par millilitre, de la solution (a) en opérant selon la technique décrite au réactif formaldéhyde (4.1.1) sur 10,0 mL de la solution (a). Diluez dans de l'*eau R* une prise d'essai appropriée de solution (a) pour obtenir la solution contenant 2 µg par millilitre de formaldéhyde.

Dans 2 tubes jaugés de 20 mL, introduisez respectivement 2 mL de solution à examiner et 1 mL de solution témoin additionné de 1 mL d'*eau R*. Dans chaque tube, ajoutez 5 mL d'une solution obtenue en dissolvant 0,2 g de *sel sodique d'acide chromotrope R* dans 5 mL d'*eau R* et en complétant à 100 mL avec de l'*acide sulfurique R*. Agitez et portez au bain-marie pendant 30 min. Refroidissez. Complétez à 20 mL avec de l'*eau R*. Observez dans l'axe des tubes de fond blanc. Si le tube contenant la solution à examiner présente une coloration, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle du tube contenant la solution témoin (0,2 pour cent en formaldéhyde).

Indole, scatole, tryptophane. Dissolvez 10 mg d'extrait de bile de bœuf dans 1 mL d'*acide acétique R*. Ajoutez 5 mL de *solution de xanthidrol R* à 0,2 pour mille *m/V* dans un mélange de 1 volume d'*acide chlorhydrique R* et de 99 volumes d'*acide acétique R*. Chauffez au bain-marie pendant 10 min. Il ne se développe pas de coloration rose violacé.

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

Perte à la dessiccation (2.2.32). Déterminée à l'étuve à 105 °C, sur 1,00 g d'extrait de bile de bœuf, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 6,0 pour cent.

Cendres sulfuriques (2.4.14). Déterminé sur 1,0 g d'extrait de bile de bœuf, le taux des cendres sulfuriques n'est pas supérieur à 35,0 pour cent.

Contamination microbienne (2.6.13). L'extrait de bile de bœuf satisfait à l'essai du dénombrement des germes aérobies viables totaux (2.6.12) avec un maximum de 10^4 microorganismes par gramme, déterminé par filtration sur membrane. L'extrait de bile de bœuf satisfait à l'essai d'*Escherichia coli* (2.6.13) et à l'essai des salmonelles (2.6.12).

DOSAGE

Solution à examiner. Dissolvez 0,100 g d'extrait de bile de bœuf dans de l'*acide acétique R* à 60 pour cent V/V et complétez à 100,0 mL avec le même acide. Agitez et filtrez si nécessaire.

Solution témoin. Dissolvez 50,0 mg d'*acide cholique R* dans de l'*acide acétique R* à 60 pour cent V/V et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Agitez.

Dans 3 tubes à essai, introduisez respectivement 1 mL de solution à examiner, 1 mL de solution témoin et 1 mL d'*acide acétique R* à 60 pour cent V/V. Ajoutez 1 mL de *solution de furfural R* à 1 pour cent V/V. Agitez et placez les tubes à 0 ± 1 °C pendant 5 min, Ajoutez 13 mL d'un mélange de 50 volumes d'*acide sulfurique R* et de 65 volumes d'*eau R*. Portez les tubes au bain-marie à 70 ± 1 °C pendant 10 min, puis refroidissez à 0 ± 1 °C pendant 2 min. Mesurez immédiatement l'absorbance (2.2.25) des deux solutions à 680 nm en utilisant comme liquide de compensation le contenu du troisième tube à essai.

En tenant compte des absorbances mesurées et de la concentration des solutions, calculez la teneur en $C_{24}H_{40}O_5$.

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