**Панкреатин, ФС**

**капсулы Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат панкреатин, капсулы (капсулы, капсулы кишечнорастворимые). Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и ниже приведенным требованиям.

Содержит не менее 90,0 % от заявленной активности (протеолитической, липолитической и амилолитической) панкреатина.

**Описание**. Содержание раздела приводится в соответствии с требованиями ОФС «Капсулы».

**Подлинность.** *1.* *Амилолитическая активность*. Препарат обладает амилолитической активностью (раздел «Количественное определение»).

*2.* *Липолитическая активность*. Препарат обладает липолитической активностью (раздел «Количественное определение»).

*3.* *Протеолитическая активность*. Препарат обладает протеолитической активностью (раздел «Количественное определение»).

**Растворение**. Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм».

**Вода.** Не более 5,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1).

**Однородность дозирования.** В соответствии с ОФС «Однородность дозирования».

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 4,0 %.

Около 1 г (точная навеска) растёртого содержимого капсул сушат в вакуумной камере при температуре 60 °С и давлении 1,3 кПа в течение 4 ч.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

Микробиологическая чистота. В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**

*1. Амилолитическая активность*. Определение проводят методом титриметрии.

*Раствор серной кислоты*. Серная кислота концентрированная – вода 1:4.

*Испытуемая суспензия*. Точную навеску порошка растёртого содержимого капсул, соответствующую около 1500 ЕД амилазы, помещают в охлаждённую до температуры от 0 до 4 °С ступку и растирают с 3 мл охлаждённого до температуры 5±3 °С фосфатного буферного раствора pH 6,8 (1) до получения тонкой суспензии. С помощью того же буферного раствора полученную суспензию количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл охлаждённого фосфатного буферного раствора pH 6,8 (1), тщательно перемешивают в течение 15 мин, доводят объём суспензии охлаждённым фосфатным буферным раствором pH 6,8 (1) до метки.

*Стандартная суспензия*. Точную навеску стандартного образца панкреатина, соответствующую около 1500 ЕД амилазы, помещают в охлаждённую до температуры от 0 до 4 °С ступку и растирают с 3 мл охлаждённого до температуры 5±3 °С фосфатного буферного раствора pH 6,8 (1) в течение 5 мин до получения тонкой суспензии. С помощью того же буферного раствора полученную суспензию количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл охлаждённого фосфатного буферного раствора pH 6,8 (1), тщательно перемешивают в течение 15 мин, доводят объём суспензии охлаждённым фосфатным буферным раствором pH 6,8 (1) до метки.

В коническую колбу вместимостью 250 мл с притёртой стеклянной пробкой помещают 25,0 мл раствора крахмала 1 %, 10,0 мл фосфатного буферного раствора pH 6,8 (1) и 1,0 мл 0,2 М раствора натрия хлорида. Колбу закрывают, встряхивают и выдерживают в водяной бане при температуре 25±1 °С. Через 10 мин в колбу прибавляют 1,0 мл испытуемой суспензии, перемешивают и возвращают на водяную баню. Через 10 мин (точное время) прибавляют 2,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты. При непрерывном перемешивании прибавляют 10,0 мл 0,05 М раствора йода и сразу же 45,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида. Смесь выдерживают в темноте при комнатной температуре в течение 15 мин. Прибавляют 4,0 мл раствора серной кислоты. Избыток йода титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата.

Параллельно проводят контрольный опыт по описанной методике, но 2,0 мл 1 М раствора кислоты хлористоводородной прибавляют перед внесением испытуемой суспензии.

Аналогично проводят определение со стандартной суспензией.

Амилолитическую активность в ЕД в одной капсуле (Aa) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V* | − | объём 0,1 М раствора натрия тиосульфата, израсходованный на титрование испытуемой суспензии в основном опыте, мл; |
|  | *V0* | – | объём 0,1 М раствора натрия тиосульфата, израсходованный на титрование стандартной суспензии в основном опыте, мл; |
|  | *V*1 | − | объём 0,1 М раствора натрия тиосульфата, израсходованный на титрование испытуемой суспензии в контрольном опыте, мл; |
|  | *V2* | – | объём 0,1 М раствора натрия тиосульфата, израсходованный на титрование стандартной суспензии в контрольном опыте, мл; |
|  | *A*0 | − | амилолитическая активность стандартного образца панкреатина, ЕД/мг; |
|  | *a* | − | навеска содержимого капсул, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца панкреатина, мг; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг. |

*2. Липолитическая активность*. Определение проводят методом титриметрии.

*Эмульсия оливкового масла*. В мерный стакан вместимостью 500 мл помещают 20 мл оливкового масла, 165 мл 10 % раствора гуммиарабика и 15 мл воды. Стакан помещают на ледяную баню, эмульгируют смесь при охлаждении до температуры от 5 до 10 °С в течение 15 мин при средней скорости перемешивании 1000-2000 об/мин и в течение 30 мин при средней скорости перемешивания 8000 об/мин, поддерживая температуру смеси не выше 25 °С. Полученную эмульсию хранят в полиэтиленовых ёмкостях при температуре не выше 10 °С не более 14 дней. Эмульсия не должна расслаиваться. Не менее 90 % капель эмульсии должны иметь диаметр менее 3 мкм, и не должно быть капель с диаметром больше 10 мкм.

*Раствор натрия таурохолата 8 %*. Около 4,0 г (точная навеска) стандартного образца натрия таурохолата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в воде, доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Трис-буферный раствор*. Около 60,6 мг трис(гидроксиметил)аминометана и около 0,234 г натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Эмульсионный субстрат*. В емкость из полиэтилена вместимостью 500 мл помещают 100,0 мл эмульсии оливкового масла, 80,0 мл трис-буферного раствора, 20,0 мл раствора натрия таурохолата 8 % и 95,0 мл воды. Смесь охлаждают до температуры 4 °С. Эмульгирование производят при средней скорости перемешивания 8000 об/мин в течение 20 мин. Эмульсию используют свежеприготовленной.

*Испытуемая суспензия*. Точную навеску растёртого содержимого капсул, эквивалентную около 2500 ЕД липазы, растирают в течение 5 мин в предварительно охлаждённой до температуры 0–4 °С фарфоровой ступке с 3 мл охлаждённого до такой же температуры малеатного буферного раствора pH 7,0. Полученную суспензию количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл с помощью того же растворителя, доводят объём суспензии малеатным буферным раствором pH 7,0 до метки.

*Стандартная суспензия*. Точную навеску стандартного образца панкреатина, эквивалентную около 2500 ЕД липазы, растирают в течение 5 мин в предварительно охлаждённой до температуры 0–4 °С фарфоровой ступке с 3 мл охлаждённого до такой же температуры малеатного буферного раствора pH 7,0. Полученную суспензию количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл с помощью того же растворителя, доводят объём суспензии малеатным буферным раствором pH 7,0 до метки.

Титрование проводят сразу после приготовления испытуемой и стандартной суспензии.

29,5 мл эмульсионного субстрата помещают в термостатируемый реакционный сосуд вместимостью 50 мл. Уравновешивают температуру при 37±0,2 °С. Сосуд соединяют с электродами, мешалкой и бюреткой, кончик которой погружают в эмульсию оливкового масла, закрывают крышку. При перемешивании осторожно прибавляют 0,1 М раствора натрия гидроксида, доводят pH до 9,2. Вносят 0,5 мл стандартной суспензии, непрерывно прибавляют 0,1 М раствора натрия гидроксида для поддержания величины на уровне 9,0. Измерение проводят в течение 5 мин (точное время). После каждой целой минуты отмечают объём израсходованного 0,1 М раствора натрия гидроксида. Результаты, полученные на первой минуте, не учитывают, по результатам последующих четырех минут вычисляют средний объём прибавленного раствора натрия гидроксида (S1) за 1 мин.

По окончании измерений сосуд очищают и троекратно промывают водой.

Повторяют еще 2 серии измерений (S2 и S3), вычисляют среднее значение (S).

По результатам трех серий среднее значение израсходованного 0,1 М раствора натрия гидроксида должно составлять около 0,12 мл/мин с пределом отклонения от 0,08 до 0,16 мл/мин.

Аналогично проводят три серии определений испытуемой суспензии (T1, T2 и T3), вычисляют среднее значение (Т). Если количество израсходованного 0,1 М раствора натрия гидроксида выходит за пределы диапазона 0,08-0,16 мл/мин, то определения повторяют с большим или меньшим количеством испытуемой суспензии, изменяя ее количество от 0,4 мл до 0,6 мл.

Липолитическую активность в ЕД в одной таблетке (AL) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V1* | − | средний объём 0,1 М раствора натрия гидроксида, израсходованный на титрование испытуемой суспензии в минуту, мл; |
|  | *V0* | – | средний объём 0,1 М раствора натрия гидроксида, израсходованный на титрование стандартной суспензии в минуту, мл; |
|  | *a1* | − | навеска порошка растёртого содержимого капсул, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца панкреатина, мг; |
|  | *A0* | − | липолитическая активность стандартного образца панкреатина, ЕД/мг; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг. |

*3. Протеолитическая активность*. Определение проводят методом спектрофотометрии.

*Раствор энтерокиназы*. Около 25 мг (точная навеска) энтерокиназы помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 3 мл предварительно охлаждённого 0,02 М раствора кальция хлорида, перемешивают в течение 5 мин, доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Срок годности раствора – 1 сутки при температуре от 2 до 8 °С.

*Раствор казеина*. Точную навеску казеина, эквивалентную 1,25 г сухого вещества, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, суспендируют с 5 мл воды, затем прибавляют 10 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают в течение 1 мин. Затем прибавляют 60 мл воды, перемешивают раствор в течение 4 ч, доводят pH до 8,0±0,05 с помощью 0,1 М раствора натрия гидроксида или 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты. Раствор количественно при помощи воды переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартная суспензия.* Точную навеску стандартного образца панкреатина, эквивалентную 162,5 ЕД протеазы, растирают в предварительно охлаждённой до температуры 0–4 **°С** фарфоровой ступке с 3 мл охлаждённого до той же температуры 0,02 М раствора кальция хлорида. Содержимое ступки количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл при помощи охлаждённого 0,02 М раствора кальция хлорида, доводят объём раствора тем же растворителем до метки. 2,0 мл полученной суспензии помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора боратным буферным раствором pH 7,5 при температуре 2±2 °С до метки.

*Испытуемая суспензия.* Все операции выполняют при температуре растворов от 0 до 4 °С. Точнуюнавеску порошка растёртого содержимого капсул, эквивалентную около 260 ЕД активности протеазы, растирают в предварительно охлаждённой до температуры 0–4 °С фарфоровой ступке с 3 мл охлаждённого до той же температуры 0,02 М раствора кальция хлорида в течение 15 мин. К суспензии прибавляют 25 мл того же растворителя и перемешивают в течение 5 мин. Содержимое ступки количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл при помощи охлаждённого 0,02 М раствора кальция хлорида, доводят объём раствора тем же растворителем до метки. 10,0 мл полученной суспензии помещают в пробирку, прибавляют 10,0 мл раствора энтерокиназы и нагревают на водяной бане, нагретой до температуры 35±0,2 °С в течение 15 мин, затем охлаждают на ледяной бане. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора боратным буферным раствором pH 7,5 при температуре 2±2 °С до метки. Суспензию используют свежеприготовленной.

Для определения маркируют пробирки: T, Tb, S1, S1b, S2, S2b, S3, S3b в двух повторностях и B.

В пробирки помещают следующее количество боратного буферного раствора pH 7,5: B – 3,0 мл, S1 и S1b – по 2 мл, S2, S2b, T, Tb – по 1,0 мл.

В пробирки прибавляют следующее количество стандартной суспензии: S1 и S1b – по 1,0 мл; S2 и S2b – по 2,0 мл; S3 и S3b – по 3,0 мл.

В пробирки T и Tb прибавляют по 2,0 мл испытуемой суспензии.

В пробирки B, S1b, S2b, S3b, Tb прибавляют по 5,0 мл 5 % раствора трихлоруксусной кислоты и встряхивают.

Пробирки и раствор казеина выдерживают 10 мин в водяной бане при температуре 35±0,2 °С. В пробирки B, S1b, S2b, S3b, Tb прибавляют по 2,0 мл раствора казеина и встряхивают. В нулевой момент времени последовательно прибавляют по 2 мл раствора казеина в пробирки S1, S2, S3, T с интервалами в 30 сек, сразу же перемешивая.

Ровно через 30 мин (с учетом интервалов по 30 с) после добавления раствора казеина в пробирки S1, S2, S3, T прибавляют по 5,0 мл 5 % раствора трихлоруксусной кислоты и тщательно перемешивают.

Вынимают пробирки из водяной бани и выдерживают их при комнатной температуре в течение 20 мин. Содержимое каждой пробирки фильтруют дважды через один и тот же бумажный фильтр, предварительно промытый 5 % раствором трихлоруксусной кислоты, затем водой, и высушенный.

Измеряют оптическую плотность фильтратов при длине волны 275 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют фильтрат раствора из пробирки B.

Рассчитывают средние величины оптической плотности фильтратов, полученных в пробирках S1, S2, S3, затем корректируют их, вычитая из них средние значений оптической плотности фильтратов, полученных в пробирках S1b, S2b, S3b соответственно.

Скорректированные величины оптической плотности должны находиться в границах допустимого интервала от 0,15 до 0,60. В случае несоответствия допустимому интервалу берут соответственно большие или меньшие навески испытуемого препарата, повторяя испытание заново.

Строят градуировочный график, по оси ординат которой откладывают скорректированные значения оптической плотности, а по оси абсцисс – используемый объём стандартной суспензии (S1, S2, S3).

Активность испытуемого препарата, соответствующую объёму стандартной суспензии, определяют по градуировочному графику на основании скорректированных значений оптической плотности фильтратов в пробирках с испытуемой суспензией T и Tb, учитывая коэффициент разведения.

Протеолитическую активность в ЕД в одной капсуле (AP) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V* | − | объём стандартной суспензии, установленный по градуировочной кривой, мл; |
|  | *a* | − | навеска порошка содержимого капсулы, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца панкреатина, мг; |
|  | *A0* | − | протеолитическая активность стандартного образца панкреатина, ЕД/мг; |
|  | *F* | – | фактор разведения испытуемого препарата; |
|  | *G* | – | средняя масса содержимого одной капсулы, мг. |

**Хранение**. В сухом, защищённом от света месте.