**Гемицеллюлаза + желчи компоненты + ФС**

**панкреатин, таблетки кишечнорастворимые,**

**покрытые пленочной оболочкой Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на комбинированный лекарственный препарат гемицеллюлазы + желчи компоненты + панкреатин, таблетки кишечнорастворимые, покрытые пленочной оболочкой. Действующими веществами препарата являются ферментные препараты и экстракт бычьей желчи, способствующие пищеварению. Препарат содержит также вспомогательные вещества*.*

Каждая таблетка кишечнорастворимая, покрытая пленочной оболочкой, должна содержать (в том числе для таблеток в дозировке форте) приведенные ниже действующие вещества.

**Панкреатин** (протеаза, амилаза, липаза – не менее 80 % от заданной активности).

**Гемицеллюлаза** – не менее 80 % от заданной активности.

**Экстракт бычьей желчи** – не менее 80 % от заданного количества холевой кислоты.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство лекарственного препарата гемицеллюлазы + желчи компоненты + панкреатин в форме таблеток кишечнорастворимых, покрытых пленочной оболочкой, основано на приготовлении массы для таблетирования, содержащей все субстанции и вспомогательные вещества, с последующим гранулированием, таблетированием таблетной массы и покрытием ядер таблеток пленочной оболочкой.

Субстанцию гемицеллюлазы получают путем глубинного культивирования производственного штамма на оптимальной питательной среде с последующим выделением из культуральной жидкости, очисткой и сушкой ферментного комплекса с добавлением наполнителя.

Субстанция панкреатина представляет собой ферментный препарат, содержащий протеазы, амилазы и липазы, получаемый из поджелудочной железы свиней или крупного рогатого скота.

Субстанцию компонентов желчи получают экстракцией бычьей желчи.

Препарат гемицеллюлазы + желчи компоненты + панкреатин, таблетки кишечнорастворимые, покрытые пленочной оболочкой, должен производиться в соответствии с [правилами надлежащей производственной практики](http://docs.cntd.ru/document/499029882) и контроля качества биологических лекарственных препаратов. Производственный процесс и показатели качества комбинированного пищеварительного препарата в форме таблеток кишечнорастворимых, покрытых пленочной оболочкой, должны соответствовать требованиям, указанным в ОФС «Таблетки» и ОФС «Биологические лекарственные препараты».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Таблетки кишечнорастворимые, покрытые пленочной оболочкой, круглые, двояковыпуклые, с вкраплениями на изломе, с характерным запахом.Определение проводят органолептическим методом.

**Подлинность.** Подтверждают качественными реакциями на протеазу и амилазау (панкреатин), качественной реакцией на желчные кислоты (холевая кислота), биохимическими методами определения активности липазы (панкреатин) и гемицеллюлазы (раздел «Количественное определение»). Допускается определять подлинность компонентов лекарственного препарата биохимическими методами в соответствии с разделом «Количественное определение» или с использованием других подходящих валидированных методов.

*Панкреатин*

*Протеаза (реакция гидролиза фибрина).* Растирают 3 таблетки до порошкообразного состояния. Растворяют 1,5 г порошка растертых таблеток в 10 мл воды очищенной и делят полученный раствор на 3 части. Одну часть подкисляют до pH 1,0 добавлением хлористоводородной кислоты разведенной 1 М, используя в качестве индикатора раствор крезолового красного. Раствор выдерживают в течение 15 мин, затем доводят pH до 8,0 добавлением натрия гидроксида раствора 1 М. В двух других порциях pH доводят до 8,0 добавлением натрия гидроксида раствора 1 М; в качестве индикатора используют раствор крезолового красного. Нагревают до кипения только вторую порцию. В каждую порцию добавляют несколько волокон фибрина, окрашенного конгорот\*, нагревают до (40 ± 0,1) °С и выдерживают в течение 1 ч. Третья порция (раствор 3) окрашивается в красный цвет, а растворы 1 и 2 должны остаться бесцветными или слабо-розовыми.

Примечание

*\*Приготовление фибрина, окрашенного конгорот.* Фибрин в количестве 1,5 г выдерживают в 50 мл конгорот раствора 20 г/л (в этаноле 90 %) в течение 12 ч. Окрашенный фибрин фильтруют, промывают водой и хранят под эфиром.

*Амилаза (реакция гидролиза крахмала).* Растирают 2 таблетки до порошкообразного состояния. Растворяют 1 г порошка растертых таблеток в 10 мл воды очищенной, доводят pH до 8,0 добавлением натрия гидроксида раствора 1 М, используя в качестве индикатора раствор крезолового красного. Полученный раствор делят на две части, одну из которых нагревают до кипения на водяной бане.

Раствор субстрата готовят, добавляя 100 мг крахмала к 100 мл кипящей воды, после чего охлаждают и доводят объем до метки. К половине раствора субстрата добавляют раствор панкреатина после кипячения, а другую часть крахмала добавляют к раствору панкреатина без обработки кипячением. Смеси выдерживают при (38 ± 0,1) °С в течение 5 мин, после чего 1 мл каждой смеси добавляют к 10 мл йода раствора 0,001 М. Раствор панкреатина без кипячения сохраняет цвет раствора йода. Раствор после кипячения приобретает интенсивный синий цвет.

*Липаза (реакция гидролиза масла оливкового).* Определение проводят по наличию активности липазы биохимическим методом в соответствии с разделом «Количественное определение».

*Гемицеллюлаза*

Определение проводят по наличию активности гемицеллюлазы биохимическим методом в соответствии с разделом «Количественное определение».

*Экстракт бычьей желчи* *(холевая кислота)*

Испытуемый раствор (см. испытуемый раствор в разделе «Количественное определение» экстракта бычьей желчи») должен приобрести синий цвет при добавлении фурфурола и серной кислоты при

70 оС.

**Однородность массы.** Испытания проводят в соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм» методом случайной выборки из разных упаковок 20 произвольно отобранных таблеток (18/20 – не более ± 5 %, 2/20 – не более ± 10 %).

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 5,0 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании» весовым методом или другим подходящим валидированным методом.

**Распадаемость**. Не менее 120 мин в хлористоводородной кислоте разведенной 0,1 М (искусственная желудочная жидкость), после этого не более 60 мин в искусственной кишечной жидкости с дисками (панкреатиновый буферный раствор pH 7,5). Испытание проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул» и ОФС «Таблетки».

*Панкреатиновый буферный раствор pH 7,5.* Растворяют 10 г панкреатина и 6,9 г калия дигидрофосфата в воде в мерной колбе вместимостью 1000 мл. Доводят pH до 7,5 добавлением натрия гидроксида раствора 1 М или хлористоводородной кислоты разведенной 1 М.

Если 1 или 2 таблетки не распались, повторяют тест еще на 12 дополнительных таблетках. Не менее 16 таблеток из 18 образцов должны полностью распасться.

**Остаточные органические растворители.** Для определения органических летучих примесей используют метод газовой хроматографии в соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Микробиологическая чистота.** Требования должны соответствоватьОФС «Микробиологическая чистота» (категория 3Б табл. 1).

**Количественное определение.**

***Панкреатин*** (протеаза, амилаза, липаза – не менее 80 % от заданной активности).

***Гемицеллюлаза*** – не менее 80 % от заданной активности.

***Экстракт бычьей желчи*** – не менее 80 % от заданного количества холевой кислоты.

Испытания проводят подходящими валидированными методами, в том числе указанными ниже.

Примечание. Для испытаний используют тонкий порошок измельченных ядер таблеток, удаляя сахарную или иную оболочку и кишечнорастворимую оболочку, как приведено ниже или другим подходящим способом.

Удаление сахарной оболочки**.** Берут 20 таблеток, покрытых сахарной оболочкой, промывают водой до удаления оболочки и подсушивают.

Удаление кишечнорастворимой оболочки. После удаления сахарной или иной оболочки кишечнорастворимую оболочку удаляют механически любым удобным способом. Взвешивают 20 ядер таблеток и рассчитывают среднюю массу таблетки. Все таблетки измельчают до тонкого порошка и используют для проведения анализов.

1. Панкреатин

Активность протеазы. Должна быть не менее 80 % от заданной.

За единицу активности протеазы принимают такое количество фермента, которое катализирует расщепление казеина до неосаждаемых трихлоруксусной кислотой (ТХУ) продуктов гидролиза, эквивалентных 1 мкМ тирозина, при 37 оС за 1 мин.

Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Стандартный/испытуемый раствор.* Точную навеску стандартного/ испытуемого образца, эквивалентную около 100 Ед. протеазы, помещают в ступку и растирают с раствором кальция хлорида. Смесь помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки раствором кальция хлорида. Разбавляют 6,5 мл полученного раствора до 100 мл боратным буферным раствором рН 7,5 при температуре не выше (20 ± 2) °С.

*Проведение анализа*

Приготовленные растворы отбирают в тестовые пробирки, как указано в таблице.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Реактив | Контроль | S1 | S2 | S3 | S1b | S2b | S3b | Т | Т b |
| Буфер | 3 мл | 2мл | 1 мл | - | 2 мл | 1 мл | - | 1 мл | 1 мл |
| Стандарт | - | 1 мл | 2 мл | 3 мл | 1 мл | 2 мл | 3 мл | - | - |
| Тест | - | - | - | - | - | - | - | 2 мл | 2 мл |
| ТХУ 5 % | 5 мл | - | - | - | 5 мл | 5 мл | 5 мл | - | 5 мл |
|  | | Нагрев до (35 ± 0,5) °С на водяной | | | | | бане | | |
| Казеин | 2 мл | 2 мл | 2 мл | 2 мл | 2 мл | 2 мл | 2 мл | 2 мл | 2 мл |
|  | | Выдержка при (35 ± 0,5) °С на водяной бане 30 мин. | | | | | | | |
| ТХУ 5 % | - | 5 мл | 5 мл | 5 мл | - | - | - | 5 мл | - |

Примечание (растворы №№ …)

Все реактивы используют свежеприготовленными.

1. *Раствор кальция хлорида (pH 6,0 – 6,2).* Растворяют 2,94 г кальция хлорида в 1000 мл воды дистиллированной. Доводят pH раствора до 6,0 – 6,2 с помощью хлористоводородной кислоты разведенной 0,1 М или натрия гидроксида раствора 0,1 М и перемешивают.
2. Раствор казеина. К точной навеске казеина, эквивалентной 1,25 г сухого вещества, добавляют 50 мл воды дистиллированной и 10 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, встряхивают в течение 1 ч и доводят pH до 8,0 натрия гидроксида раствором 0,1 М. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем водой до метки.

Пробы извлекают из водяной бани, охлаждают при (22 ± 2) оС и фильтруют. Поглощение стандартного и испытуемого растворов измеряют при 275 нм, используя контрольный раствор для сравнения. Средние значения поглощения для фильтратов, полученных из пробирок S1, S2, S3 и Т корректируют путем вычитания средних значений, полученных для фильтратов из пробирок S1b, S2b, S3b и Tb, соответственно. На основании полученных результатов строят график зависимости объема использованного стандартного раствора (мл) по отношению к скорректированному поглощению раствора стандартного образца (S - Sb). Рассчитав скорректированное значение оптической плотности образца (T - Tb), по графику находят его количество (мл) и рассчитывают активность протеазы *Ap* (FIP Ед./таб.) по формуле:

, где

*R* - объем, соответствующий величине оптической плотности испытуемого раствора, мл;

*Р* - активность стандарта протеазы, FIP Ед./мг;

*Ws* - навеска стандарта протеазы, мг;

*Wt* - навеска образца, мг;

*V* - объем испытуемого раствора (2 мл);

*Av* - средняя масса ядра таблетки, мг.

*Активность амилазы.* Должна быть не менее 80 % от заданной.

За единицу активности α-амилазы принимают такое количество фермента, которое катализирует расщепление крахмала со скоростью, равной гидролизу одного микроэквивалента гликозидной связи за 1 мин, в условиях проведения эксперимента.

Определение проводят методом титриметрии.

Все растворы используют свежеприготовленными, если не указано иначе.

Стандартный раствор. Точную навеску стандартного образца липазы и амилазы, эквивалентную 1500 Ед. активности амилазы, помещают в предварительно охлажденную ступку и растирают с фосфатным буферным раствором (pH 6,8) при температуре не выше (20 ± 2) оС. Смесь переносят в мерную колбу емкостью 100 мл и доводят объем до метки этим же буферным раствором.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка ядер таблеток, эквивалентную 1500 Ед. активности амилазы, готовят так же, как стандартный раствор.

*Проведение анализа*

Раствор крахмала (субстрат) в количестве 25 мл помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл. Добавляют 10 мл фосфатного буферного раствора (pH 6,8) и 1 мл натрия хлорида раствора 0,2 М, выдерживают при (25 ± 0,1) °С в течение 15 мин. Добавляют 1 мл стандартного/испытуемого раствора, перемешивают и выдерживают при (25 ± 0,1) °С 10 мин. Чтобы прервать ферментативную реакцию, в реакционную смесь при постоянном перемешивании добавляют 2 мл хлористоводородной кислоты разведенной 1 М. Затем добавляют 10 мл йодараствор 0,05 М и 45 мл натрия гидроксида раствор 0,1 М, выдерживают 15 мин в темном месте. После этого добавляют 4 мл серной кислоты разведенной 20 % и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания раствора. Контрольное титрование проводят с добавлением 2 мл хлористоводородной кислоты разведенной 1 М перед внесением испытуемого раствора.

Активность амилазы *Aa* (FIP Ед./таб.) рассчитывают по формуле:

, где

*BRt* - разница объемов при тест- и контрольном титровании испытуемого раствора, мл;

*BRs* - разница объемов при тест- и контрольном титровании стандартного раствора, мл;

*Ws* - навеска стандартного образца, мг;

*Wt* - навеска испытуемого образца, мг;

*Av* - средняя масса ядра таблетки, мг;

*Р* - активность стандартного образца, FIP Ед./мг.

*Активность липазы.* Не менее 80 % от заданной.

За единицу активности липазы принимают такое количество фермента, которое необходимо для высвобождения 1 микроэквивалента жирной кислоты в минуту при гидролизе оливкового масла при 37 оС в условиях проведения эксперимента.

Определение проводят методом титриметрии.

Все реактивы используют свежеприготовленными, если не указано иначе.

Камеди аравийской раствор *10* %. Смешивают 40 г аравийской камеди с 400 мл воды дистиллированной, встряхивают в течение 2 ч, после чего центрифугируют в течение 40 мин.

Натрия таурохолата раствор *8* %. Помещают 2,0 г натрия таурохолата в мерную колбу вместимостью 25 мл, разбавляют водой дистиллированной до метки и встряхивают до растворения.

Трис-гидрохлорида буферный раствор. Растворяют 0,606 г трис(гидроксиметил)аминометана и 2,34 г натрия хлорида в мерной колбе вместимостью 1000 мл и доводят объем до метки водой дистиллированной.

Масла оливкового эмульсия основная. Перемешивают 40 мл масла оливкового, 330 мл камеди аравийской раствора и 30 мл воды дистиллированной при 8000 об/мин в течение 30 мин до эмульгирования, поддерживая температуру не выше (25 ± 2) оС непрерывным добавлением колотого льда в охлаждающую смесь (подходит также смесь кальция хлорида и колотого льда), окружающую сосуды. Эмульсия не должна разделяться на два отдельных слоя. Основную эмульсию хранят в ледяной бане до использования (используют свежеприготовленную) либо хранят при температуре минус (20 ± 2) оС и используют в течение 14 сут.

Масла оливкового эмульсия рабочая (субстрат). Смешивают 100 мл масла оливкового эмульсии основной, 80 мл трис-гидрохлорида буферного раствора, 20 мл натрия таурохолата раствора 8,0 % и 95 мл воды дистиллированной при (22 ± 2) оС до получения гомогенной эмульсии (используют свежеприготовленную).

Растворитель липазы. Растворяют 10 г натрия хлорида, 6,06 г трис(гидроксиметил)аминометана и 4,9 г малеинового ангидрида в 1000 мл воды дистиллированной. Раствор доводят до pH 7,0, добавляя натрия гидроксида раствор 4 М. Хранят при (5 ± 3) оС и используют в течение 3 сут.

Стандартный раствор. Точную навеску стандартного образца липазы и амилазы, эквивалентную примерно 2500 Ед. липазы, помещают в предварительно охлажденную ступку и растирают с достаточным количеством растворителя липазы при температуре не выше (20 ± 2) оС в течение 10 мин. Смесь помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки этим же растворителем. Используют сразу после приготовления.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка ядер таблеток, эквивалентную примерно 2500 Ед. липазы, готовят так же, как стандартный раствор.

Проведение анализа

Откалибровать рН-метр с помощью стандартных буферных растворов при (22 ± 2) оС. Перенести 29,5 мл предварительно нагретой (в течение 10 минут) эмульсии субстрата в рН-метр и установить температуру (37 ± 2) оС. Эта температура должна поддерживаться в течение всего процесса титрования. Эмульсию тщательно перемешивают до и после титрования.

Эмульсию субстрата титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до pH 9,2; после чего добавляют 1 мл (точный объем) испытуемого/ стандартного раствора. Когда показания рН-метра достигнут 9,0; добавляют 0,1 М раствор натрия гидроксида, пока показания рН-метра снова не достигнут значения 9,2. Одновременно с этим включают секундомер и засекают время, за которое показания рН-метра возвращаются к значению 9,0 (измерения рН повторяют не менее 5 раз). Аналогичные процедуры проводят параллельно с растворами испытуемого и стандартного образцов.

Средний расход использованного 0,1 М раствора натрия гидроксида должен составлять около 0,12 мл/мин с предельно допустимыми значениями от 0,08 до 0,16 мл/мин. Если количество использованного 0,1 М раствора натрия гидроксида выходит за пределы 0,08 - 0,16 мл/мин, проводят повторное определение с более подходящим количеством тест-суспензии, но в пределах 0,4 - 0,6 мл. В противном случае, количество испытуемого вещества корректируют, чтобы удовлетворять условиям испытания.

Активность липазы (*Al* , FIP Ед./таб.) рассчитывают по формуле:

, где

*Rt*- показание расхода для тест раствора, мл;

*Rs* - показание расхода для стандартного раствора, мл;

*Ws* - навеска стандарта, мг;

*Wt*- навеска образца, мг;

*Р* - активность стандарта липазы, FIP Ед./мг;

*Av* - средняя масса ядра таблетки, мг.

1. ***Гемицеллюлаза.*** Не менее 80 % от заданной активности.

За единицу активности (Ед.) гемицеллюлазы принимают количество фермента, которое при определенных условиях катализирует расщепление натрия карбоксиметилцеллюлозы со скоростью, обеспечивающей снижение вязкости раствора субстрата на 1 мПа·с за 1 мин при pH 7,6 и 20 °C.

*Фосфатный буферный раствор pH 7,6*. В мерную колбу вместимо­стью 1000 мл помещают 0,9 г натрия фосфата однозамещённого и 15,59 г на­трия фосфата двузамещённого, растворяют в 200 мл воды очищенной и доводят объём раствора водой до метки. При необходимости устанавливают pH 7,6 ± 0,1 (потенциометрически) с помощью натрия гидро­ксида раствора 30 % или фосфорной кислоты концентрированной. Срок годности раствора 1 мес.

*Натрия карбоксиметилцеллюлозы раствор.* В подходящий химиче­ский стакан вместимостью 250 мл помещают 100 мл фосфатного буферного раствора (рН 7,6), взвешивают 2 г натрия карбоксиметилцеллюлозы и рассыпают по поверхности водного зер­кала. Оставляют набухать в течение 1 ч, затем растворяют при постоянном перемешивании до получения прозрачного вязкого раствора. Рас­твор помещают в термостат (20 ± 0,2 °C) и выдерживают в течение 2 ч при периодическом (каждые 15 мин) перемешивании. Измеряют вязкость полученного раствора. При необходимости вязкость раствора доводят фосфатным буферным раствором (рН 7,6) до (240 ± 5) мПа·с. Раствор используют свежеприготовленным.

Испытуемый раствор (раствор А). 0,160 г (точная навеска) порошка 20 растертых таблеток взбалтывают с 15 мл фосфатного буферного раствора pH (7,6 ± 0,1) в течение 5 мин.

*Проведение анализа*

В стакан вместимостью 150 мл, содержащий 100 мл раствора натрия карбоксиметилцеллюлозы с вязкостью (240 ± 5) мПа∙с, помещают 15 мл рас­твора А, тщательно перемешивают и выдерживают при (20 ± 0,2) °С в течение 2 ч, перемешивая каждые 15 мин. Через 2 ч определяют вязкость раствора. Активность гемицеллюлазы (*Ag*, Ед./табл.) рассчитывают по формуле:

где

*Vo* - вязкость исходного раствора, мПа∙с;

*Vi* - вязкость испытуемого раствора, мПа∙с;

*G* - средняя масса таблетки, мг;

m - навеска препарата, г;

120 - время проведения анализа, мин.

1. *Экстракт бычьей желчи (холевая кислота).* Не менее 80 % от заданного количества.

Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Все растворы используют свежеприготовленными, если не указано иначе.

Стандартный раствор. Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца холевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяют в уксусной кислоте разведённой 60 %. Объем раствора доводят до метки тем же растворителем.

Испытуемый раствор. Взвешивают 20 ядер таблеток и измельчают до порошкообразного состояниия. Порошок перемешивают и взвешивают в количестве, эквивалентом около 25 мг экстракта бычьей желчи, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 10 мл этанола и растворяют. Доводят объем раствора до метки уксусной кислотой разведённой 60 %, фильтруют и переносят в пробирки, как указано ниже в таблице.

Проведение анализа

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Раствор *i*  (Реактив t) | Стандартный | Испытуемый | Контрольный |
| Стандарт | 1 мл | - | - |
| Тест | - | 1 мл | - |
| Уксусная кислота разведённая 60 % | - | - | 1 мл |
| Фурфурола раствор 1 % | 1 мл | 1 мл | 1 мл |
| Серная кислота разведенная 45 % | 18 мл | 18 мл | 18 мл |
| После добавления всех компонентов, пробирки помещают в водяную баню при (70 ± 5) °С на 10 мин. Затем охлаждают в бане со льдом в течение 2 мин. | | | |

Поглощение стандартного и испытуемого растворов измеряют при максимуме около 650 нм с использованием контрольного раствора для сравнения. Количество холевой кислоты (*Ah*, мг/таб.) рассчитывают по значениям поглощения и чистоте стандартного образца по формуле:

, где

*At* - поглощение тест раствора;

*Аs* - поглощение стандартного раствора;

*Ws*- навеска стандарта, мг;

*Wt* - навеска образца, мг;

*Р* - чистота стандарта, %;

*Av* - средняя масса ядра таблетки, мг.

**Транспортирование и** **хранение.** При температуре не выше 25 °С в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств», ОФС «Хранение лекарственных средств» и ОФС «Биологические лекарственные препараты».