МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Панкреатин, гранулы кишечнорастворимые ФС**

**Панкреатин, гранулы кишечнорастворимые**

**Pancreatini granula enterosolubilia Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат панкреатин, гранулы кишечнорастворимые. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Гранулы» и нижеприведенным требованиям.

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

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

**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».

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 3,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Около 0,5 г (точная навеска) порошка растертых гранул высушивают в течение 4 ч в вакууме при температуре

60±2 °С и остаточном давлении не более 70,0 мм рт.ст.

**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.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растёртых гранул, 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.

При приготовлении испытуемого раствора все операции выполняют при температуре от 0 °С до 4 °С. Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор*. Точную навеску стандартного образца панкреатина (амилаза), 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 крахмала раствора 1 %, 10,0 мл фосфатного буферного раствора pH 6,8 (1) и 1,0 мл натрия хлорида раствора 0,2 М. Колбу закрывают, встряхивают и выдерживают в водяной бане при температуре 25±1 °С. Через 10 мин в колбу прибавляют 1,0 мл испытуемого раствора, перемешивают и возвращают на водяную баню. Через 10 мин (точное время) прибавляют 2,0 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М. При непрерывном перемешивании прибавляют 10,0 мл йода раствора 0,05 М и сразу же 45,0 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М. Смесь выдерживают в темноте при комнатной температуре в течение 15 мин. Прибавляют 4,0 мл серной кислоты раствора 20%. Избыток йода титруют натрия тиосульфата раствором 0,1 М.

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

Аналогично проводят определение со стандартным раствором.

Амилолитическую активность в ЕД в 100 мг гранул (Aa) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V* | − | объём натрия тиосульфата раствора 0,1 М, израсходованный на титрование испытуемого раствора в основном опыте, мл; |
|  | *V0* | – | объём натрия тиосульфата раствора 0,1 М, израсходованный на титрование стандартного раствора в основном опыте, мл; |
|  | *V*1 | − | объём натрия тиосульфата раствора 0,1 М, израсходованный на титрование испытуемого раствора в контрольном опыте, мл; |
|  | *V2* | – | объём натрия тиосульфата раствора 0,1 М, израсходованный на титрование стандартного раствора в контрольном опыте, мл; |
|  | *A*0 | − | амилолитическая активность стандартного образца панкреатина, ЕД/мг; |
|  | *a* | − | навеска порошка растертых гранул, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца панкреатина, 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. В мерный стакан помещают мешалку и охлаждают до температуры 5 **°**С. Эмульгирование производят при средней скорости перемешивания 2000 об/мин в течение 30 мин, поддерживая температуру ниже 10 °С.

Полученную эмульсию хранят в полиэтиленовых ёмкостях при температуре от 2 до 8 °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.

*Испытуемый раствор*. Точную навеску порошка растёртых гранул, 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.

*Стандартный раствор*. Точную навеску стандартного образца панкреатина (липаза), 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 испытуемого и стандартного раствора.

В термостатируемый реакционный сосуд вместимостью 50 мл помещают 29,5 мл эмульсионного субстрата. 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 натрия гидроксида раствор 0,1 М, доводят значение pH до 9,00±0,05. Вносят 0,5 мл стандартного раствора, непрерывно прибавляют натрия гидроксида раствор 0,1 М для поддержания величины рН на уровне 9,0±0,05. Измерение проводят в течение 5 мин (точное время). После каждой целой минуты отмечают объём израсходованного натрия гидроксида раствора 0,1 М. 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 натрия гидроксида раствора 0,1 М должно составлять около 0,12±0,04 мл/мин.

Аналогично проводят три серии определений испытуемой суспензии (T1, T2 и T3), вычисляют среднее значение (Т). Если количество израсходованного натрия гидроксида раствора 0,1 М 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 100 мг гранул (AL) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V1* | − | средний объём натрия гидроксида раствора 0,1 М, израсходованный на титрование испытуемого раствора в минуту, мл; |
|  | *V0* | – | средний объём натрия гидроксида раствора 0,1 М, израсходованный на титрование стандартного раствора в минуту, мл; |
|  | *a1* | − | навеска порошка растёртых гранул, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца панкреатина, мг; |
|  | *A0* | − | липолитическая активность стандартного образца панкреатина, ЕД/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 кальция хлорида раствора 0,02 М, 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 около 1,25 г сухого вещества, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, суспендируют с 5 мл воды, затем прибавляют 10 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, перемешивают в течение 1 мин. Затем прибавляют 60 мл воды, перемешивают раствор на магнитной мешалке до получения практически прозрачного раствора, доводят значение pH до 8,00±0,05 с помощью натрия гидроксида раствора 0,1 М или хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор.* Точнуюнавеску порошка растёртых гранул, 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 кальция хлорида раствора 0,02 М, добавляют 25 мл кальция хлорида раствора 0,02 М и перемешивают в течение 5 мин на ледяной бане. Содержимое ступки количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 60 мл кальция хлорида раствора 0,02 М, доводят значение pH до 6,1±0,05 с помощью натрия гидроксида раствора 0,1 М или хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В пробирку помещают 5 мл полученного раствора и 5 мл раствора энтерокиназы и нагревают на водяной бане при температуре 35°С в течение 15 мин. Смесь охлаждаем на ледяной бане до температуры 5°С. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора боратным буферным раствором pH 7,5, охлажденным до температуры 5°С до метки.

*Стандартный раствор.* Точную навеску стандартного образца панкреатина (протеаза), эквивалентную 130 ЕД протеазы, растирают в предварительно охлаждённой до температуры 0–4 **°**С фарфоровой ступке с 3 мл охлаждённого до той же температуры кальция хлорида раствора 0,02 М, добавляют 25 мл кальция хлорида раствора 0,02 М и перемешивают в течение 5 мин на ледяной бане. Содержимое ступки количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 60 мл кальция хлорида раствора 0,02 М, доводят значение pH до 6,1±0,05 с помощью натрия гидроксида раствора 0,1 М или хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора холодным боратным буферным раствором pH 7,5.

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 стандартного раствора: 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 испытуемого раствора.

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

Все 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 2,0 мл раствора казеина в пробирки S1, S2, S3, T с интервалами в 30 сек, сразу же перемешивая.

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

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, зависимости скорректированных значений оптической плотности, от объёма стандартного раствора (S1, S2, S3).

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

Протеолитическую активность в ЕД в 100 мг гранул (AP) вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *V* | − | объём стандартного раствора, установленный по градуировочной кривой, мл; |
|  | *a* | − | навеска порошка растёртых гранул, мг; |
|  | *a0* | – | навеска стандартного образца панкреатина, мг; |
|  | *A0* | − | протеолитическая активность стандартного образца панкреатина, ЕД/мг. |

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