

**Министерство образования и науки Республики Казахстан**

**Медицинский университет Караганды**

**Мухаметканова Т.М.**

**Контроль технологического процесса и оценка качества субстанции  
«Тимьяна частолистого экстракт сухой»**

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

**специальность 6В07201 - «Технология фармацевтического производства»**

**Караганда 2021**

**Министерство образования и науки Республики Казахстан**

**Медицинский университет Караганды**

**Школа фармации**

«Допущена к защите»

Декан Школы фармации

к.б.н., доцент \_\_\_\_\_ Лосева И.В.

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

**На тему: «Контроль технологического процесса и оценка качества  
субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»**

**по специальности 6В07201 - «Технология фармацевтического  
производства»**

**Выполнила:**

**Т.М. Мухаметканова**

**Руководитель:**

**Д.фарм.н., ассоц. профессор**

**С.А. Ивасенко**

**Караганда 2021**

**«Утверждаю»**  
Декан Школы фармации

\_\_\_\_\_

«\_\_\_» сентября 20\_\_ г.

**ЗАДАНИЕ**  
**на выполнение дипломной работы (проекта)**

Студентке Мухаметкановой Тамиле Маратовне  
IV курса, группы ТФП - 4002, дневной формы обучения

1. Тема дипломной работы (проекта): «Контроль технологического процесса и оценка качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» утверждена Советом школы от «\_\_» октября 20\_\_ г. №

2. Срок сдачи студентом законченной работы «\_\_\_» апреля 20\_\_ г.

3. Исходные данные к работе (законы, литературные источники, лабораторно-производственные данные):

Анализ литературных источников, включающих следующие виды журналов: «Фармация Казахстана», «Фармация», «Ратительные ресурсы», «Pharmaceutics», «Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis», «Phytochemical Analysis», «Pharmaceutical Biology», «Medicinal Chemistry Research» и другие.

4. Перечень вопросов, подлежащих к разработке в дипломной работе (проекта):

- определить параметры контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»;
- определить контрольные точки технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»;
- разработать стратегию контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

5. Перечень графических материалов (чертежи, таблицы, диаграммы и т.д.)

Представить рисунки морфологических и анатомических признаков растительного сырья тимьяна частолистого, рисунок технологической схемы получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой», таблицы, включающие описание стадий вспомогательных работ и технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

6. Перечень основной рекомендуемой литературы: 1) «Фармация Казахстана», 2) «Die Pharmazie», 3) «Ратительные ресурсы», 4) «Pharmaceutics»,

5) «Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis», 6) «Phytochemical Analysis», 7) «Pharmaceutical Biology», 8) «Medicinal Chemistry Research».

7. Консультации по работе (с указанием относящихся к ним разделов работы):

Номер, название раздела, главы	Научный руководитель, консультант	Сроки получения задания	Задание выдал (подпись)	Задание принял (подпись)
1. Литературный обзор	Ивасенко С.А.			
2. Экспериментальная часть	Ивасенко С.А.			
3. Результаты	Ивасенко С.А.			
4. Выводы	Ивасенко С.А.			

8. График выполнения дипломной работы (проекта):

№	Этапы работы	Сроки выполнения этапов работы	Примечание
1	Утверждение темы дипломной работы/проекта		
2	Сбор материалов для подготовки дипломной работы/проекта		
3	Подготовка теоретической части дипломной работы/проекта		До начала практики
4	Подготовка экспериментальной части дипломной работы/проекта		Во время практики
5	Завершение чернового варианта полного текста дипломной работы/проекта		На первой неделе после окончания практики
6	Предоставление дипломной работы/проекта на предзащиту		На уровне заседания кафедры/школы
7	Предоставление дипломной работы/проекта) на рецензию		
8	Предоставление окончательного варианта дипломной работы/проекта с отзывом научного руководителя и рецензией		
9	Защита дипломной работы/проекта		В соответствии с расписанием ГАК

Дата выдачи задания «\_\_» сентября 20\_\_ г.

Научный руководитель \_\_\_\_\_ Ивасенко С.А., д.фарм.н.,  
подпись профессор-исследователь

Задание принял: студент \_\_\_\_\_ Мухаметканова Т.М.  
подпись

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
Введение.....	88
1 Литературный обзор.....	111
2 Материалы и методы исследований .....	156
2.1 Материалы исследований .....	156
2.2 Методы исследований.....	177
3 Определение параметров контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».....	189
3.1 Входной контроль, проверка качества сырья и вспомогательных материалов .....	189
3.1.1 Проверка качества растительного сырья тимьяна частолистого...	189
3.1.2 Контроль качества основных и вспомогательных материалов....	245
3.2 Межоперационный контроль получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».....	245
3.2.1 Контроль над соответствием технологического процесса действующей нормативной и технической документации .....	245
3.2.2 Определение важнейших контрольных точек получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».....	290
3.3 Выходной контроль - оценка качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».....	290
4 Разработка стратегии контроля технологического процесса получения и оценки качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».....	337
Заключение.....	400
Список использованной литературы .....	442
Приложения.....	444

## НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В дипломной работе применены ссылки на следующие нормативные документы:

- ГОСО РК 5.03.016-2009. Правила выполнения дипломной работы (проекта) в высших учебных заведениях. Основные положения;
- ГОСТ 25336-82. Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры;
- ГОСТ 8.417-81. Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы физических величин;
- Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. – Алматы: Изд. дом «Жибек жолы», 2008. - 592 с;
- Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 2. – Алматы: Изд. дом «Жибек жолы», 2009. – 804 с.
- Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 3. – Алматы: Изд. дом «Жибек жолы», 2014. – 872 с.
- ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АНД – аналитический нормативный документ

ВР – вспомогательные работы

г - грамм

ГФ РК – Государственная фармакопея Республики Казахстан

ГХ - газовая хроматография

кГц - килогерц

К<sub>м</sub> – контроль микробиологический

К<sub>т</sub> – контроль технологический

К<sub>х</sub> – контроль химический

кг – килограмм

ЛР – лабораторный регламент

мкл – микролитр

мкг - микрограмм

мл – миллилитр

М<sub>г</sub> – молекулярная масса

мм – миллиметр

мин - минута

об - объем

о.с.ч. – особо чистый

ОФС – общая фармакопейная статья

с. - страница

см – сантиметр

СО – стандартный образец

т. - том

ТП – технологический процесс

УМО – стадии упаковки, маркировки, отгрузки

х.ч. – химически чистый

ч.д.а. – чистый для анализа

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Международные организации (ВОЗ, FIP, ICH, ISPE) прилагают значительные усилия по гармонизации технического регулирования в фармацевтической сфере. Например, в соответствии с Федеральным закон Российской Федерации № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» вводится обязательное соответствие производства лекарственных средств (в том числе из растительного сырья) требованиям правил организации производства и контроля качества лекарственных средств [1].

К каждому лекарственному средству предъявляются три основных требования эффективность, безопасность, качество.

Контроль в процессе производства или внутрипроизводственный контроль качества лекарственных средств подразделяют на три вида: входной, межоперационный и выходной (оценка качества).

*Входной контроль* это проверка качества сырья и вспомогательных материалов, поступающих в производство.

*Межоперационный контроль* охватывает весь технологический процесс. Целью межоперационного контроля является проверка соблюдения технологических режимов, правил хранения и упаковки продукции между операциями в соответствии с нормативной документацией.

*Выходной (приемочный) контроль* - контроль качества готовой продукции. Цель выходного контроля установить соответствие качества готовых лекарственных средств требованиям нормативных документов [2].

Ранее в Школе фармации НАО «МУК» впервые получен сухой экстракт из надземной части *Thymus crebrifolius* двукратной экстракцией растительного сырья 70% этанолом с использованием ультразвука. Сухой экстракт *Thymus crebrifolius* обладает широким спектром антимикробного действия, в том числе в отношении *Helicobacter pylori*, при этом не токсичен, и может быть использован в качестве антимикробного средства как индивидуально, так и в комплексной терапии [3]. Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» (ЛР-2387-1930-01-ГП-06-18), в соответствии с которых производится наработка опытных партий для дальнейших фармацевтических и фармакологических работ.

Поэтому организация и проведение внутрипроизводственного контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» для обеспечения качества готового продукта является важной и актуальной задачей.

**Современное состояние решаемой научной проблемы.** Качество лекарственных средств, в процессе их производства и изготовления, обеспечивается: избранием технологического процесса и параметров его реализации на всех стадиях производства лекарственных средств; определением эффективного порядка воспроизведения технологического процесса, обеспечивающего исключение загрязнений и перекрестное загрязнение

производимых лекарственных средств; контролем за работой технологического оборудования; осуществление всех необходимых видов контроля сырья, полупродуктов и готовых лекарственных средств в соответствии с требованиями технологического процесса и установленной нормативной документацией [4].

Обычно, стратегия контроля качества для каждого лекарственного средства формируется на этапе его разработки, и содержит показатели качества исходного сырья и материалов, требования к производственной среде, параметры эксплуатации технологического оборудования, данные оценки качества лекарственного средства и показатели переконтроля в случае обращения [2].

Организация и проведение внутрипроизводственного контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» для обеспечения качества готового продукта будут осуществляться впервые.

**Целью дипломной работы** является организация внутрипроизводственного контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

**Задачи:**

- определить параметры контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»;
- определить контрольные точки технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»;
- разработать стратегию контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

**Научная новизна работы.** Впервые определены параметры контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»: входной контроль - проверка качества сырья тимьяна частолистого на соответствие требованиям проекта АНД РК и вспомогательных материалов на соответствие НД и НТД; межоперационный контроль - проверка соблюдения технологических режимов в соответствии с лабораторным регламентом; выходной контроль - установление соответствия качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» требованиям проекта АНД РК.

Впервые определены контрольные точки для устранения (минимизации) риска на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

**Практическая значимость работы.** Впервые организован и проведен внутрипроизводственный контроль технологического процесса получения 3 серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой», в результате которого установлено, что сырье тимьяна частолистого и вспомогательные материалы соответствуют требованиям НД и НТД, фактически осуществляемая последовательность технологических этапов соответствует представленной в

лабораторном регламенте, полученные серии субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствуют требованиям проекта АНД РК.

Разработана стратегия контроля технологического процесса, применение которой позволяет обеспечить получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствующего качества.

## 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Международные организации (ВОЗ, FIP, ICH, ISPE) прилагают значительные усилия по гармонизации технического регулирования в фармацевтической сфере [1].

Основной целью фармацевтического производства является изготовление лекарственных веществ и готовых лекарственных средств. При этом используется исходное сырье и вспомогательные, упаковочные и маркировочные материалы [5].

Для обеспечения производства лекарственных средств соответствующего качества, производственный процесс должен быть реализован в точном соответствии с технологическим регламентом [5].

### *Исходное сырье*

Фармацевтические предприятия должны иметь утвержденную в установленном порядке нормативную документацию на исходное сырье, в том числе стандарт предприятия [5].

На фармацевтическом производстве надлежит иметь утвержденный стандарт предприятия, содержащий:

- характеристики исходного сырья и материалов с представлением их названий и указанием условного наименования и/или кода;
- указание ссылок на существующую нормативную документацию;
- представление потенциальных поставщиков растительного сырья и материалов, с которыми проведено согласование спецификации качества, количество и даты их поставок;
- руководства, регламентирующие отбор проб и осуществление входного контроля;
- нормы требований к качеству, с указанием дополнений, в соответствии с условиями производства;
- соответствующие нормы для хранения и критерии предосторожности при работе с сырьем и материалами;
- нормы срока хранения растительного сырья и материалов, с указанием даты перепроверки показателей качества [5].

При доставке каждой серии растительного сырья и материалов следует контролировать соответствие данных в бланке заказа и данных в сопроводительных документах, также на этикетках поставщика, целостность упаковки, сертификаты качества сырья и материалов. Необходимо регистрировать получение каждой серии сырья и материалов [5].

При одновременной поставке нескольких разных серий аналогичных наименований сырья и материалов, необходимо произвести отбор проб каждой серии для осуществления входного контроля на соответствие требованиям нормативной документации [5].

Проводится входной контроль приобретенных сырья и материалов согласно нормативным документам, для этого производится отбор средние

пробы каждой серии сырья и материалов. Отбор образцов необходимо осуществлять согласно письменной инструкцией в специализированном помещении и в условиях, которые позволяют исключить дополнительные факторы, которые могут повлиять на качество сырья и материалов. В лучшем случае, отбор проб должен осуществлять один уполномоченный сотрудник ОКК под надзором другого [5].

Любые обнаруженные несоответствия требованиям нормативной документации, и нарушения целостности упаковки, наличие которых могут оказать влияние на качество исходного сырья и материалов, необходимо зафиксировать.

Приобретенные сырье и материалы необходимо обеспечить этикеткой, в которой должны быть указаны:

- название продукта, условное обозначение и/или код;
- номер серии;
- нормы срока хранения растительного сырья и материалов, с указанием даты перепроверки показателей качества [5].

Наряду с этим рационально применять этикетки разного цвета. В ходе реализации последовательных стадий контроля и на основании результатов (например, сырье можно использовать или сырье не соответствующего качества) проводится замена этикетки [5].

Сырье и материалы необходимо хранить в специализированных помещениях, в изоляции от процесса производства. Для предупреждения перекрестного разрезнения сырья и материалов, необходимо обеспечить отдельные участки или помещения для приема, хранения и выдачи [5].

Уполномоченному персоналу должен быть организован доступный подход к сырью и материалам при хранении [5].

В ходе работы работ с сырьем и материалами необходимо соблюдать регламентируемые нормы санитарии, гигиены и техники безопасности [5].

Сырье и материалы подаются в производство, если их показатели качества отвечают всем требованиям нормативной документации, с разрешением отдела контроля качества. Должны пройти регистрацию выдача и количество исходного сырья [5].

Нужно оставить образцы каждой приобретенной серии сырья и материалов, для повторного анализа показателей качества по необходимости, и хранить в соответствии с п. 2.3.3 в достаточном количестве [5].

Вначале необходимо использовать серии сырья и материалов, которые приобрели раньше и прошли контроль ОКК. Взвешивание и/или отмеривание исходного сырья и материалов с целью применения в производстве осуществляется специализированным персоналом предприятия на основании письменной инструкции. До начала взвешивания и/или отмеривания сырья и материалов нужно удостовериться, что есть разрешение на использование, а тара для сырья соответствует требованиям и промаркирована. Взвешивание осуществляется один сотрудником и контролируется другим сотрудником [5].

При доставке исходного сырья и материалов к производственному участку необходимо соблюдать определенные условия для исключения вторичной контаминации [5].

Сырье, которое используется для производства нестерильных лекарственных препаратов, должно проходить периодическую проверку на микробиологическую чистоту [5].

Сырье, которое применяется для производства стерильных лекарственных препаратов, необходимо регулярно проверять на стерильность или микробиологическую чистоту, также на пирогенность, если это необходимо. Дозволяемое количество микроорганизмов указывается в нормативных документах и стандартах предприятия для каждого вида сырья. Содержание механических примесей в исходном сырье определяется по необходимости [5].

Отбракованные сырье и материалы маркируются и возвращаются поставщику или уничтожаются, на что оформляются определенные документы [5].

### *Процесс производства*

Реализация технологического процесса должна проводиться на основании технологического регламента, для гарантии выпуска лекарственного средства, соответствующего всем требованиям аналитического нормативного документа. Особое внимание необходимо уделять совершенствованию процесса производства и вопросам модернизации [5].

Операции технологического процесса реализуются и контролируются персоналом соответствующей квалификации, с применением специализированного оборудования и приборов, в помещениях специально определенных для этих целей [5].

Осуществляться и проходит регистрацию в соответствии с письменными инструкциями и стандартами предприятия должны все виды обработки и использования сырья, вспомогательных, упаковочных и маркировочных материалов, полупродуктов и готового продукта, включая приемку, карантин, отбор и анализ проб, хранение, маркировку и упаковку. Все изменения в технологическом процессе необходимо вводить и регистрировать в определенном на предприятии порядке. Все отклонения в процессе реализации производственных операций необходимо регистрировать [5].

Условия реализации технологического процесса обязаны гарантировать:

- формирование поточности технологического процесса;
- обеспечение согласованности, безопасности и безаварийности работы всего технологического оснащения, и оптимальность его загрузки;
- контакты персонала выполняющего работу с сырьем, вспомогательными материалами, материалами первичной упаковки и готовым продуктом в процессе обслуживания оборудования и при выполнении производственных операций, должны быть сведены к минимуму;
- все стадии технологического процесса должны быть строго задокументированы, в том числе оформление материального баланса;

- переработку образующихся отходов;
- автоматизирование и компьютеризацию технологических процессов, механизирование вспомогательных и погрузочно-разгрузочных работ [5].

Добавление определенной массы или объема сырья при производстве любой серии лекарственного средства должно осуществлять специализированный персонал цеха на основании письменной инструкции. Добавление сырья проводится одним сотрудником при контроле другим. Расчитанные количества добавленных компонентов должны гарантировать содержание в полученном лекарственном средстве не менее ста процентов количества действующего вещества, представленного на этикетке [5].

Допустимые сроки и условия хранения полупродуктов процесса производства необходимо определить и отразить в технологическом регламенте или в другой нормативной документации [5].

#### *Контроль процесса производства*

Для предупреждения получения готового продукта, не отвечающего требованиям аналитического нормативного документа, необходимо проводить постадийный контроль процесса производства, который регулярно исполняется сотрудниками контрольно-аналитической лаборатории и периодически ОКК на основании действующих отраслевых документов, технологических регламентов и письменных инструкций. Сроки проверок устанавливаются руководством организации и отдела контроля качества непосредственно к определенному продукту и процессу его производства [5].

В процессе реализации постадийного контроля контролируются:

- соответствие применяемых сырья, вспомогательных, упаковочных и маркировочных материалов и полупродуктов требованиям нормативным документам;
- санитарное состояние цехов, рабочих мест и оборудования;
- осуществление технологических операций в соответствии с регламентом и контроль технологических режимов производства [5].

Результаты постадийного контроля должны быть зафиксированы в определенных журналах и в досье на лекарственное средство. Если зафиксированы отклонения от режимов и норм технологического процесса, необходимо определить причины и реализовать меры по их устранению, что необходимо отразить в документах и внести в досье [5].

Несмотря на активное внедрение и гармонизацию мировых стандартов по контролю качества лекарственных средств и обширность проводимых исследований отсутствуют обобщенные научно-методические подходы к определению и мониторингу критических стадий в производстве лекарственных средств из растительного сырья. Анализ международных правил GMP (ВОЗ, ЕС, FDA, ICH и др.), показывает, что особенности производства и контроля качества лекарственных средств из растительного сырья изложены только в общем виде [1, 6-15].

Особенности производства и контроля качества лекарственных средств из растительного сырья требуют индивидуального подхода, поэтому организация и внутривыпроизводственного контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» является важной и приоритетной задачей.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалы и методы, использованные для проведения научных исследований, соответствуют требованиям ОФС Государственной Фармакопеи Республики Казахстан, European Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, ФС, ВФС и других нормативных документов, действующих на территории Республики Казахстан.

### 2.1 Материалы исследований

#### Объекты исследования:

**Технологическая схема** получения «Тимьяна частолистого экстракт сухой» лабораторного регламента на получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» (ЛР-2387-1930-01-ГП-06-18).

**Растительное сырье.** Надземная часть тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Клок.) собрана в популяции Карагандинской области Республики Казахстан, в окрестностях города Жезказган в горах Улытау (N 48°42'13"; E 66°59'10") в июне 2020 г., в фазу полного цветения. Растительное сырье высушили, измельчили и хранили в соответствии с требованиями ГФ РК для лекарственных растений.

**Субстанция** «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

**Стандартный образец** цинарозида.

#### Реактивы и растворители:

При проведении научно-исследовательских работ применяли реактивы и растворители квалификации «о.с.ч.», «х.ч.», «ч.д.а.».

**Этилацетат.** C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>. (M<sub>r</sub> 88.1). 1035300. [141-78-6]. Прозрачная, бесцветная жидкость. Растворим в воде, смешивается с 96 % спиртом (ГФ РК с. 529). Этилацетат используется в качестве растворителя.

**96 % спирт этиловый.** C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН. (M<sub>r</sub> 46.07). 102500. [64-17-5]. Бесцветная, прозрачная, летучая, легковоспламеняющаяся жидкость. Гигроскопична. Смешивается с водой и метилхлоридом. Горит голубым бездымным пламенем. Спирт этиловый широко используется в качестве растворителя и экстрагента. (ГФ РК, том II, с. 581).

**Вода очищенная.** H<sub>2</sub>O. (M<sub>r</sub> 18, 02). 1095500. [7732-18-5]. Вода, предназначенная для приготовления лекарственных средств, кроме стерильных и апиrogenных, при отсутствии других указаний. (ГФ РК, том II, с. 168).

**Алюминия хлорид.** AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (M<sub>r</sub> 241.4). 1002700. [7784-13-6]. Кристаллический порошок от белого до слегка желтоватого цвета, гигроскопичен. Легко растворим в воде и 96 % этаноле. (ГФ РК, том I, с. 330)

**Металлический магний.** Mg (M<sub>r</sub> 24.30). 1049500. [7439-95-4]. Лента, или стружка, или проволока серебристо-белого цвета, или порошок серого цвета. (ГФ РК, том I, с. 381)

**Уксусная кислота.** C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>. (M<sub>r</sub> 60.1). 1000300. [64-19-7]. Бесцветная жидкость или белые блестящие папоротникообразные кристаллы. Легко

смешивается или легко растворяется в воде, 96 % спирте, глицерине (85 %) и в большинстве жирных и эфирных масел. (ГФ РК, том I, с. 432).

**Хлороводородная кислота.** HCl (Mr 36.46). 1043500. [7647-01-0]. Прозрачная бесцветная дымящая жидкость. Смешивается с водой. (ГФ РК, том I, с. 439).

**Муравьиная кислота.** CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Mr 46.03). 1039300. [64-18-6]. Содержит не менее 98.0 % (м/м) CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Бесцветная жидкость. Вызывает коррозию, смешивается с водой и 96 % спиртом. (ГФ РК, том 1, с. 392).

## **2.2 Методы исследований**

Для проведения физико-химических и фармацевтических исследований использованы следующие приборы: Implen Nanophotometr P 330 (Implen GmbH, Германия).

### **Физико-химические методы**

#### **УФ-спектрофотометрия:**

Количественное содержание суммы флавоноидов в субстанции, в пересчете на цинарозид, проводили методом дифференциальной спектрофотометрии с добавлением комплексообразователя AlCl<sub>3</sub> на спектрофотометре Implen Nanophotometr P 330 (Implen GmbH, Германия) по методике [16] с некоторыми модификациями.

#### **Химические методы:**

Точную навеску 0,02 г субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» растворяют в 25 мл 70% этанола (испытуемый раствор). К 2 мл испытуемого раствора прибавляют 5-7 капель кислоты хлороводородной концентрированной и 0,01 г металлического магния или цинка, подогревают на водяной бане, появляется оранжевое окрашивание (флавоноиды).

#### **Фармакопейные методы:**

- определение цвета, вкуса, запаха субстанции проводили по методике, изложенной в ГФ РК, т. 1, с. 548;

- определение растворимости субстанции в различных растворителях проводили по методике ГФ РК, т. 1, с. 175;

#### **Товароведческий анализ:**

Определение диагностических признаков проводили согласно требованиям ГФ РК т. 1, с. 563; содержание золы общей осуществляли по ГФ РК т. 1, раздел 2.4.16; золы нерастворимой в 10 % кислоте хлороводородной, определяли по ГФ РК т. 1, раздел 2.8.1.; влажность сырья проводили согласно требованиям ГФ РК т. 1, раздел 2.8.17.

### 3 Определение параметров контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

#### 3.1 Входной контроль, проверка качества сырья и вспомогательных материалов

Входной контроль основного сырья – травы тимьяна частолистого, основных и вспомогательных материалов является одним из первых и наиболее важных этапов всей цепочки производственного контроля технологического процесса, от которых во многом зависит качество субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

##### 3.1.1 Проверка качества растительного сырья тимьяна частолистого

Для получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» надземная часть тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Klok.) собрана в популяции Карагандинской области Республики Казахстан, в окрестностях города Жезказган в горах Улытау (N 48°42'13"; E 66°59'10") в июне 2020 г., в фазу полного цветения.

Оценку показателей качества растительного сырья тимьяна частолистого проведено, проводили согласно проекта АНД РК на 3 сериях опытной партии. Полученные результаты приведены в таблице 1.

*Внешние признаки. Цельное сырье.* Стебли на поперечном срезе - округло-четырёхгранные, молодые - лилового цвета, одревесневшие - темно-коричневые. Листья сидят на стебле на коротких черешках, форма листьев - плотноэллиптическая (для верхних листьев) или эллиптическая (для нижних или средних листьев). Длина листьев 4-5 мм, ширина 1-1,5 мм, длина черешка 0,5-0,7 мм. Поверхность всех листьев голая; с обеих сторон - с многочисленными хорошо выраженными эфирно-масляными железками. Жилки листа хорошо просматриваются, как с верхней, так и с нижней стороны (рисунок 1).



Рисунок 1 – Стебель и лист воздушно-сухого сырья тимьяна частолистого:  
а – стебель, б – лист

Соцветие головчатое, плотное, почти шаровидное. Чашка - узкое брюшко с разными по форме зубцами; Длиной 3-4 мм; поверхность - малая - ребристая.

Таблица 1 – Результаты проверки качества травы тимьяна частолистого

Показатель качества	Метод испытаний	Норма отклонений	Серия		
			260720	270720	280720
Идентификация: А. Внешние признаки В. Микроскопия С. - цинарозид D. - флавоноиды	А. Визуально В. ГФ РК, т. 2, 2.8.3 С. ТСХ ГФ РК, т. 2, 2.2.27 D. Качественная реакция	А. Соответствие морфологическим признакам при просмотре невооруженным глазом и под лупой с увеличением (10х) В. Соответствие анатомическим признакам при просмотре под микроскопом с увеличением (не менее 40х) С. Rf около 0,45 (кислота муравьиная-вода очищенная-этилацетат 15:15:70). D. Реакция с кислотой хлороводородной концентрированной при добавлении металлического магния или цинка, наблюдается оранжевое окрашивание (флавоноиды).	соответствует	соответствует	соответствует
Посторонние примеси: -пожелтевших, побуревших и почерневших частей растения -органической примеси -минеральной примеси	ГФ РК I, т. 1, 2.8.2	Не более 1.0% Не более 0.5% Не более 0.5%	соответствует соответствует соответствует	соответствует соответствует соответствует	соответствует соответствует соответствует
Потеря в массе при высушивании	ГФ РК I, т. 1, 2.2.32	Не более 10.0%	6,74	6,67	6,71
Общая зола	ГФ РК I, т. 1, 2.4.16	Не более 10.0%	5,77	5,70	5,75
Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной	ГФ РК I, т. 1, 2.5.12	Не более 3.0 %	2,37	2,33	2,35
Микробиологическая чистота	ГФ РК, Т. 1, 5.1.4 Категория 3; 2.6.12 и 2.6.13	В 1.0 г сырья допускается общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов не более $10^5$ бактерий, не более $10^4$ грибов и не более $10^3$ энтеробактерий. Не допускается наличие <i>Escherichia coli</i> в 1.0 г и <i>Salmonella</i> в 10.0 г	соответствует	соответствует	соответствует
Радионуклиды:	В соответствии с АНД	Сырье должно выдерживать требованиям СанПиН №4.01.071.03.	соответствует	соответствует	соответствует
Количественное определение	Спектрофотометрия; ГФ РК I, т. 1, 2.2.25	Сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид Не менее 2,0 %	3,21	3,25	3,29

Три зуба маленькие, отогнутые под острым углом в сторону; два зубца острые (почти шиловидные), прямые, длинные - до половины от общей длины чашки. Цвет чашки зеленый или желто-коричневый. Уплотнение на поверхности отсутствует, густые ресницы отмечаются только на краю зубцов чашки. Венчик ярко-фиолетовый, на половину выдвигается от чашечки во время цветения. Поверхность нимба голая, крепкая, железистая (рисунок 2).

Запах сырья - сильный лимонный ароматный, вкус - пряный.

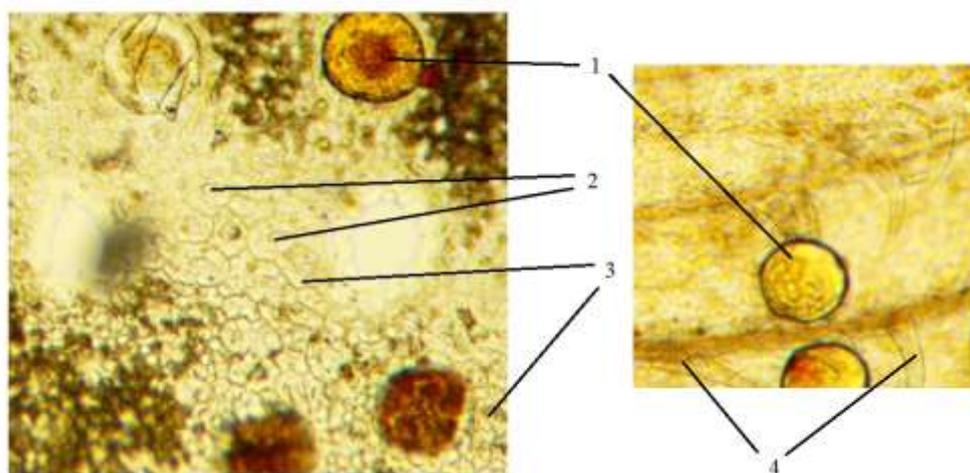


Рисунок 2 – Чашка воздушно-сухого сырья тимьяна частолистого:

*Измельченное сырье.* Кусочки листьев, соцветий, тонких стеблей, проходящие сквозь сито диаметром 5 мм.

*Идентификация.* Микроскопию препарата проводят в соответствии с ГФ РК I, т. 1, «Методы испытаний лекарственного растительного сырья», «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья».

При рассмотрении препаратов листа с поверхности клетки нижнего эпидермиса округлой или овальной формы в очертании с извилистыми стенками (рисунок 3).



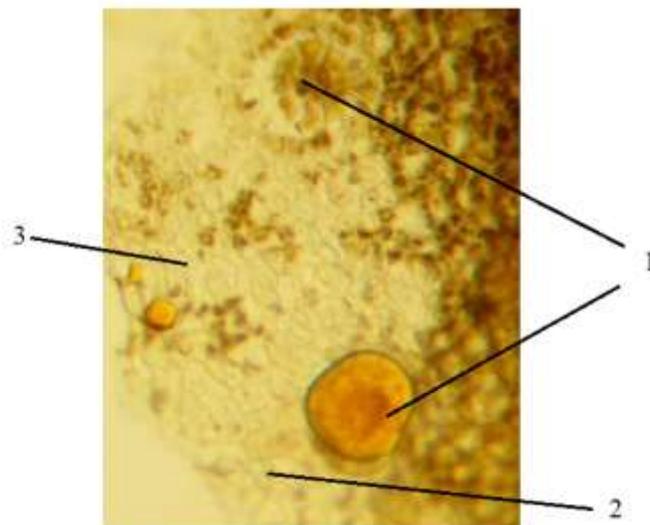
1 – эфирно-масличная железка, 2 – устьица, 3 – основные клетки эпидермиса,  
4 - трихомы

Рисунок 3 – Фрагмент нижнего эпидермиса листа. Препарат с поверхности.

Ув. 10x10

Поверхность эпидермиса покрыта слоем кутикулы, образующей складки вокруг железок и устьиц. Устьица многочисленные, аномоцитного типа (одно устьице окружено 4 и более основными клетками эпидермы). Эфирно-масличные железки крупные, округлой формы, приподнимающиеся над поверхностью; состоят из 8 клеток, расположенные в 2 яруса. По поверхности разбросаны редкие простые, 1-клеточные трихомы. Волоски слегка-изогнутой формы, образуют скопления вдоль жилок листа.

Клетки верхнего эпидермиса более прозенхимной формы со слабо извилистыми стенками (рисунок 4).



1 – эфирно-масличная железка, 2 – устьица, 3 – основные клетки эпидермиса

Рисунок 4 – Фрагмент верхнего эпидермиса листа. Препарат с поверхности.  
Ув. 10x10

*Диагностические признаки сырья тимьяна частолистого.* Устьица редкие, железки – многочисленные, также приподнимающиеся над поверхностью. Трихомы не обнаружены.

*Идентификацию сырья* также подтверждали, исходя из химического состава тимьяна частолистого, реакцией на наличие в нем флавоноиды. Сумму флавоноидов выделяли из растительного материала 3-х кратной экстракцией 70 % этанолом. Полученный экстракт показал положительную реакцию на наличие флавоноидов, при прибавлении 5-7 капель кислоты хлороводородной концентрированной и 0,01 г металлического магния или цинка, при нагревании на водяной бане, появляется оранжевое окрашивание (флавоноиды).

Наличие цинарозида в сырье устанавливали методом тонкослойной хроматографии (ГФ РК т. I, 2.2.27).

5 г измельченного сырья (2.9.12), помещают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% спирта этилового, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при температуре 50-60°C в течение 10 мин, охлаждают. Полученный экстракт

фильтруют через ватный тампон. Экстракцию повторяют еще два раза. Объединенные экстракты упаривают в вакууме до густой массы.

Остаток растворяют в 20 мл 70% спирта этилового, перемешивают и фильтруют (испытуемый раствор.)

На стартовую линию хроматографической пластинки «Sorbfil» (ПТСХ-АФ-А-УФ) 7,5 x 15 мм наносят 20 мкл (0,02 мл) испытуемого раствора, рядом 5 мкл (0,005 мл) стандартного образца цинарозида 0,1 % раствора. Пластинку высушивают на воздухе 5 минут, помещают в камеру с залитой системой растворителей: кислота муравьиная-вода очищенная-этилацетат (15:15:70) и проводят хроматографирование восходящим способом (смесь растворителей используют свежеприготовленной и вносят в камеру перед хроматографированием непосредственно).

При прохождении фронта растворителя до конца пластинки, пластинку вынимают, сушат в вытяжном шкафу до удаления запаха растворителей, далее обрабатывают спиртовым раствором алюминия хлорида 2 %, высушивают. На хроматограмме стандартного образца цинарозида появляется пятно желтого цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаружиться пятно желтого цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образца цинарозида.

Приготовление раствора сравнения. 2 мг цинарозида (СО) растворяют в 10 мл 70 % этанола.

Проведен товароведческий анализ трех серий растительного сырья тимьяна частолистого по следующим показателям:

*Посторонние примеси.* Не более 2 % (ГФ РК I, т. 1, 2.8.2).

*Потеря в массе при высушивании.* Не более 13 % (ГФ РК I, т. 1, 2.2.32). 1.000 г измельченного сырья (2.9.12), сушат при температуре 100-105 °С в течение 2 ч.

*Общая зола.* Не более 12 % (ГФ РК I, т. 1, 2.4.16).

*Зола, нерастворимая в кислоте хлороводородной.* Не более 3,5 % (ГФ РК I, т. 1, 2.8.1).

*Микробиологическая чистота.* Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13.

Сырье должно соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 4 В.

Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более  $10^5$  бактерий и не более  $10^4$  грибов в 1.0 г.

Не более  $10^3$  энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий в 1.0 г.

В 1.0 г сырья не допускается наличие *Escherichia coli* и *Salmonella* в 10.0 г.

*Радионуклиды.* Сырье должно соответствовать требованию СанПиН №4.01.071.03.

*Количественное определение.* Определение количественного содержания суммы флавоноидов, в пересчете на цинарозид, проводили методом УФ-спектрофотометрии (ГФ РК I, т. 1, 2.2.25).

5 г измельченного сырья, помещают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% спирта этилового, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при температуре 50-60°C в течение 10 мин, охлаждают. Полученный экстракт фильтруют через ватный тампон. Экстракцию повторяют еще два раза. Объединенные экстракты упаривают в вакууме до густой массы. Затем количественно переносят в колбу вместимостью 25,0 мл, растворяют в 20,0 мл спирта этилового 70% и доводят тем же растворителем до метки (раствор А).

В мерную колбу объемом 25,0 мл, помещали 5,0 мл раствора А, приливали 5,0 мл раствора алюминия хлорида 5% в спирте этиловом 70%, выдерживали 10 минут и далее приливали 1,0 мл раствора кислоты уксусной 3%. Объем полученного раствора довели спиртом этиловым 70% до метки и оставляли на 30 минут (раствор В).

Далее проводят измерение оптической плотности раствора В на спектрофотометре в кювете с толщиной рабочего слоя 10,0 мм при длине волны  $395 \pm 2$  нм.

В качестве раствора сравнения выступал раствор, состоящий из 5,0 мл раствора А, 1,0 мл раствора кислоты уксусной 3% и доведенный спиртом этиловым 70% до метки в мерной колбе вместимостью 25,0 мл.

Содержание суммы флавоноидов, в пересчете на цинарозид, в процентах (X) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25 \times 100}{E_{1\%/1\text{см}} \times m \times 5 \times (100 - W)} ;$$

где D - оптическая плотность исследуемого раствора (раствора В);

$E_{1\%/1\text{см}}$  – удельный показатель поглощения цинарозида с алюминия хлоридом в спирте этиловом 70%;

m – навеска сырья, г;

5 - аликвота раствора А, мл;

25 - объем раствора А, мл;

25 - объем раствора В, мл;

W - потеря в массе при высушивании сырья, %.

Содержание суммы флавоноидов в воздушно-сухом сырье, в пересчете на цинарозид, должно быть не менее 2,0 %.

Таким образом, по результатам проверка качества трех серий тимьяна частолистого установлено, что растительное сырье соответствует всем требованиям проекта АНД РК и может быть использовано для получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» (Приложения А-В).

### **3.1.2 Контроль качества основных и вспомогательных материалов**

Входной контроль основных и вспомогательных материалов является одним из первых и наиболее важных этапов всей цепочки производственного контроля технологического процесса, от которых во многом зависит качество субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

В таблице 2 представлены параметры контроля качества основных и вспомогательных материалов на соответствие характеристикам, приведенным в лабораторном регламенте.

Таким образом, по результатам проверки качества основных и вспомогательных материалов определено, что их характеристики соответствуют требованиям, приведенным в лабораторном регламенте, и могут быть использованы для получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

### **3.2 Межоперационный контроль получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»**

Межоперационный контроль на этапах технологического процесса включает следующие основные задачи:

- контроль над соответствием технологического процесса действующей нормативной и технической документации;
- определение важнейших контрольных точек и нормируемых показателей.

#### **3.2.1 Контроль над соблюдением технологического процесса в соответствии с лабораторным регламентом**

Одной из основных задач межоперационного контроля являлась проверка соблюдения технологического процесса в соответствии с лабораторным регламентом на получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

Контроль над соответствием технологического процесса действующему лабораторному регламенту, проводится постоянно, что обеспечивает качество субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

Технологический процесс содержит 4 технологические стадии, которые состоят из 13 технологических операций. На рисунке 5 представлена технологическая схема получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» с указанием контроля для каждой технологической стадии и технологической операций.

Межоперационный контроль фактически осуществляемой последовательности технологических этапов получения трех серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» проводили на соответствие представленной в лабораторном регламенте. Описание технологической схемы получения субстанции приведено в таблице 3.

По результатам межоперационного контроля установлено, что в процессе получения трех серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» фактически осуществляемая последовательность всех технологических стадий и операций соответствует представленной в лабораторном регламенте.

Таблица 2 - Параметры контроля качества основных и вспомогательных материалов

Наименование	Обозначения НТД	Сорт или артикул	Показатели обязательные для проверки
А. Основное сырьё и материалы			
Трава тимьяна частолистого	Проект АНД РК	Измельченные и высушенные	Показатели качества согласно проекта АНД РК
Спирт этиловый	ГФ РК с. 419, 102500. [64-17-5]	Ректификованный	Объёмная доля спирта этилового не менее 96 %
Вода очищенная	ГФ РК с. 168	Очищенная	Содержание $Ca^{2+}$ , $Cl^-$ , $SO_4^{2-}$ , нитраты, алюминий, тяжелые металлы, бактериальные эндотоксины (согласно ГФ РК)
Б. Вспомогательные материалы			
Фильтровальная бумага	ГОСТ 12026-76	Марка ФНС	Внешний вид
Флаконы	ТУ 9461-025-00480678-99	Стекло типа АБ-1 или НС-1	Внешний вид
Резиновые пробки	ТУ 38006108-76	марки ИР-119, ИР-119А (серого или черного цвета)	Внешний вид
Этикетки	ГОСТ 7625-86		Внешний вид

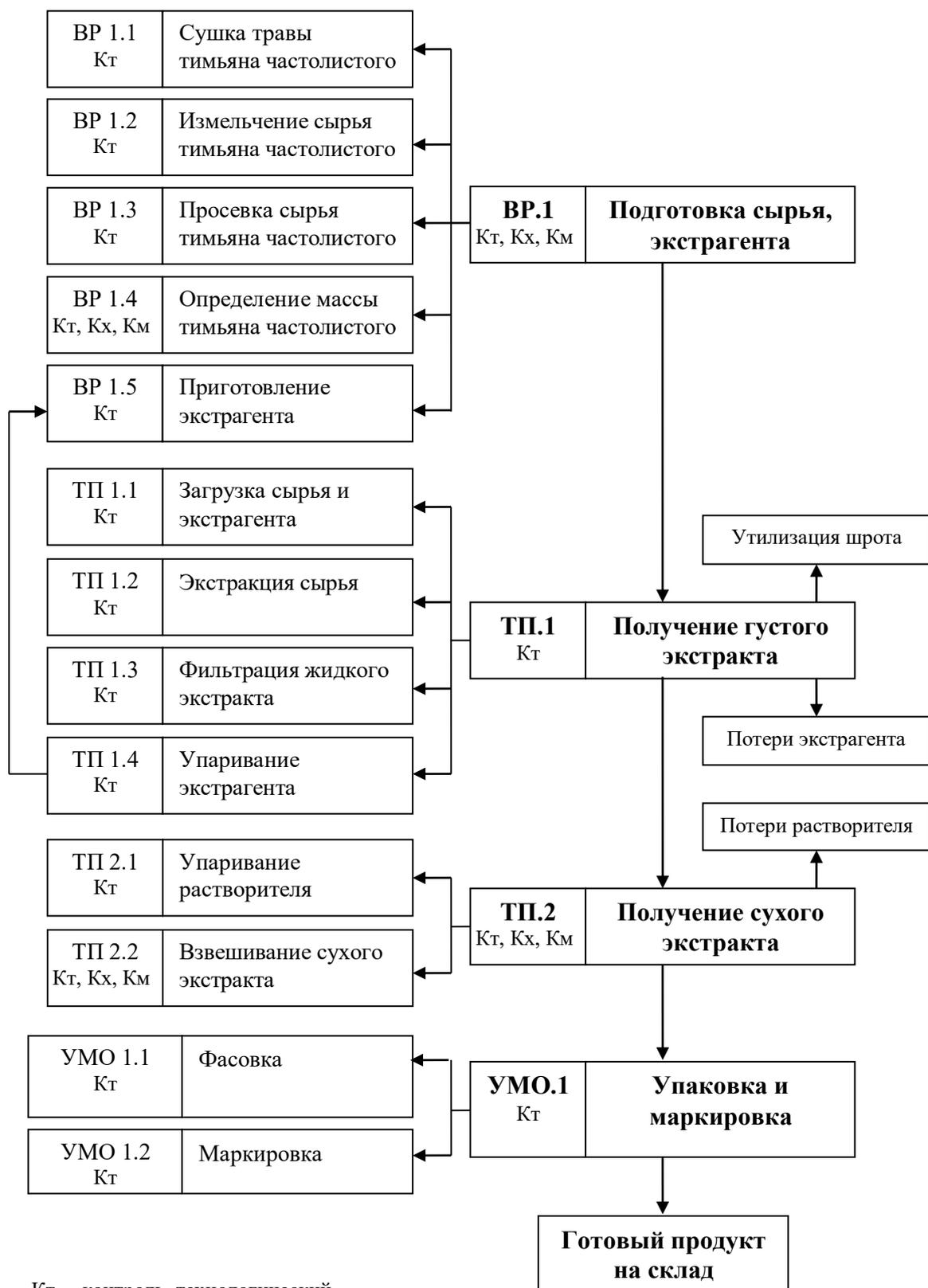


Рисунок 5 - Технологическая схема получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

Таблица 3 - Описание технологической схемы получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

Номер стадии/ операции	Наименование стадии/операции	Сырье и материалы поступающие на стадию/операцию	Позиция на аппаратурной схеме	Промежуточные продукты на стадии/операции	Стадия/операция дальнейшего использования полупродуктов
1	2	3	4	5	6
<b>ВР 1. Подготовка сырья, экстрагента</b>					
ВР 1.1	Сушка травы тимьяна частолистого	Влажное сырье	-	Воздушно-сухое сырье тимьяна частолистого	ВР 1.2
ВР 1.2	Измельчение сырья тимьяна частолистого	Воздушно-сухое сырье тимьяна частолистого	-	Измельченное сырьё тимьяна частолистого	ВР 1.3
ВР 1.3	Просевка сырья тимьяна частолистого	Измельченное сырье	-	Просеянное измельченное сырье тимьяна частолистого	ВР 1.4
ВР 1.4	Определение массы сырья	Просеянное измельченное сырье	-	Определенная масса просеянного измельченного сырья тимьяна частолистого	ТП 1.1
ВР 1.5	Приготовление экстрагента	Спирт этиловый Вода очищенная	-	Смесь этанол-вода (7:3)	ТП 1.1
<b>ТП 1. Получение жидкого экстракта</b>					
ТП 1.1	Загрузка сырья и экстрагента	Растительное сырье тимьяна частолистого Смесь этанол-вода (7:3)	-	Растительное сырье тимьяна частолистого и экстрагент в емкости для экстрагирования	ТП 1.2
ТП 1.2	Экстракция сырья	Растительное сырье тимьяна частолистого и экстрагент в емкости для экстрагирования	1	Объединенный жидкий экстракт, шрот	ТП 1.3 ОБОЭ 1.1
ТП 1.3	Фильтрация жидкого экстракта	Объединенный жидкий экстракт	2	Фильтрат жидкого экстракта Отходы фильтрации	ТП 1.4 ОБОЭ 1.2

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6
ТП 1.4	Упаривание экстрагента	Фильтрат жидкого экстракта	3	Густой экстракт, отгон экстрагента	ТП 2.1 ВР 1.5
<b>ТП 2. Получение сухого экстракта</b>					
ТП 2.1	Упаривание остаточного растворителя	Густой экстракт	4	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой»	ТП 2.2
ТП 2.2	Взвешивание субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой»	-	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой» определенной массы	УМО 1
<b>УМО 1. Упаковка и маркировка</b>					
УМО 1.1	Фасовка	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой» определенной массы	-	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой» определенной массы во флаконах	УМО 1.2
УМО 1.2	Маркировка	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой» определенной массы во флаконах	-	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой» определенной массы упакованная, промаркированная	На склад
<b>ОБОЭ 1. Переработка неиспользованных отходов производства</b>					
ОБОЭ 1.1	Утилизация сырья	Шрот сырья тимьяна частолистого	-	-	На городскую свалку
ОБОЭ 1.2	Отходы фильтрации	Отходы фильтрации	-	-	На городскую свалку

### **3.2.2 Определение важнейших контрольных точек получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»**

Второй из основных задач межоперационного контроля являлась определение важнейших контрольных точек и нормируемых показателей технологического процесса, от которых зависит качество субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

Важнейшие контрольные точки устанавливаются, в ходе проведения анализа индивидуально для каждого определенного критического фактора и анализируя по порядку все операции, входящие в производственный процесс.

Анализ технологической схемы получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» показал, что в ней можно выделить следующие важнейшие контрольные точки (таблица 4):

- на этапе вспомогательных работ: ВР 1.3 - Просевка сырья тимьяна частолистого, ВР 1.4 - Определение массы сырья, ВР 1.5 - Приготовление экстрагента;

- на этапе технологического процесса: ТП 1.2 - Экстракция сырья, ТП 1.4 - Упаривание экстрагента, ТП 2.1 - Упаривание остаточного растворителя, ТП 2.2 - Взвешивание субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»;

- на этапе упаковки и маркировка: УМО 1. - Упаковка и маркировка.

Нормы технологического режима и параметры безопасности процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» представлены в таблице 5.

По результатам межоперационного контроля определены важнейшие контрольные точки и нормируемые показатели технологического процесса, от которых зависит качество субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

### **3.3 Выходной контроль - оценка качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»**

В ходе выходного (приемочный) контроля проведена оценка качества трех серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» на соответствие требованиям проект АНД РК. Показатели качества трех серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» представлены в таблице 6.

*Описание.* Густая масса темно-зеленого цвета со специфическим запахом.

*Растворимость.* Легко растворим в 70% этаноле, диметилсульфоксиде. Частично растворим в 96% этаноле, воде очищенной. Практически не растворим в воде хлороформе, этилацетате.

*Идентификация.* Качественная реакция, тонкослойная хроматография.

А. К 20 мг субстанции, растворенной в 2 мл 70% спирта этилового, прибавляют 5-7 капель кислоты хлороводородной концентрированной, 0,01 г металлического магния или цинка, подогревают на водяной бане, появляется оранжевое окрашивание (флавоноиды).

Таблица 4 - Перечень важнейших контрольных точек получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

Наименование стадий, места измерения параметров или отбора проб	Наименование объекта контроля	Наименование контролируемого параметра	Регламентируемый норматив (значение параметра)	Методы и средства контроля	Кто производит контроль и в каком документе регистрируются результаты
1	2	3	4	5	6
ВР 1.3 - Просевка сырья тимьяна частолистого	Сырье тимьяна частолистого	Показатели качества в соответствии с проектом АНД РК	В соответствии с проектом АНД РК	В соответствии с проектом АНД РК	Специалист ЛКП НИЦ КГМУ протокола испытаний
ВР 1.4 - Определение массы сырья	Сырье тимьяна частолистого	Масса	40,0 г	Весовой (весы электронные)	Инженер в производственном журнале
ВР 1.5 - Приготовление экстрагента	Этиловый спирт Вода очищенная	Масса	897,56 г 480,00 г	Весовой (весы неавтоматического действия)	Инженер в производственном журнале
ТП 1.2 - Экстракция сырья	Ультразвуковая баня	Продолжительность экстракции	2 раза по 30 мин	Визуальный (часы)	Инженер в производственном журнале
ТП 1.4 - Упаривание экстрагента	Ротационный испаритель	Температура бани, остаточное давление	Не более 50°C, не более -0,9 кгс/см <sup>2</sup>	Температурный (термометр), манометр	Инженер в производственном журнале
ТП 2.1 - Упаривание остаточного растворителя	Водяная баня	Температура	Не более 70°C	Температурный (термометр)	Инженер в производственном журнале

Продолжение таблицы 4					
1	2	3	4	5	6
ТП 2.2 - Взвешивание субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»	Субстанция «Тимьяна частолистого экстракт сухой»	Показатели качества в соответствии с проектом АНД РК	В соответствии с проектом АНД РК	В соответствии с проектом АНД РК	Инженер в производственном журнале
УМО 1. - Упаковка и маркировка	Упаковка	Герметичность	-	-	Оператор

Таблица 5 - Нормы технологического режима и параметры безопасности процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

Наименование стадии, операции	Наименование и позиция аппарата	Наименование элемента операции (работы)	Параметры технологического процесса					
			Наименование, единицы	Значение				
				Технологическая норма		Предельно безопасное	Предельно допустимое	Критическое
Мин.	Макс.							
ТП 1.2 Экстракция сырья	Ультразвуковая баня	Время экстракции	Продолжительность, мин	60	60	60	60	>60
ТП 1.4 Упаривание экстрагента	Ротационный испаритель LAVTEX ИР-1 ЛТ	Упаривание экстрагента	Давление, кгс/см <sup>2</sup>	-0,6	-0,8	-0,9	-0,9	-1,0
			Температура, °С	45	50	55	60	65
ТП 2.1 Упаривание остаточного растворителя	Баня водяная	Нагревание этилового спирта, нагревание воды	Температура, °С	65	70	75	-	-

Таблица 6 - Оценка качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

Показатель качества	Метод испытаний	Норма отклонений	Серия		
			280321	290321	300321
1	2	3	4	5	6
Описание	Визуально	Густая масса темно-зеленого цвета со специфическим запахом	соответствует	соответствует	соответствует
Растворимость	ГФ РК I, т. 1, 1.4	Легко растворим в 70% этаноле, диметилсульфоксиде. Частично растворим в воде очищенной. Практически не растворим в воде хлороформе, этилацетате.	соответствует	соответствует	соответствует
Идентификация: А. - цинарозид  В. - флавоноиды	А. ТСХ ГФ РК, т. 2, 2.2.27 В. Качественная реакция	А. Rf около 0,45 (кислота муравьиная-вода очищенная-этилацетат 15:15:70). В. К 20 мг субстанций, растворенных в 2 мл спирта этилового 70%, прибавляют 5-7 капель кислоты хлороводородной концентрированной, 0,01 г металлического магния или цинка, подогревают на водяной бане, появляется оранжевое окрашивание (флавоноиды).	соответствует  соответствует	соответствует  соответствует	соответствует  соответствует
Вода	ГФ РК I, т. 1, 2.5.12	Не более 5.0 %	4,3	4,1	4,0
Тяжелые металлы	ГФ РК, Т. 1, с. 558 2.4.8, метод А	Не более 0,01 %	соответствует	соответствует	соответствует
Остаточные количества органических растворителей (этанол)	ГХ; ГФ РК I, т. 1, 2.2.28	Не более 0.5 %	0,2	0,2	0,3

Продолжение таблицы 6					
1	2	3	4	5	6
Микробиологическая чистота	ГФ РК, Т. 1, 5.1.4 Категория 3; 2.6.12 и 2.6.13	В 1.0 г субстанции допускается общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов не более $10^5$ бактерий, не более $10^4$ грибов и не более $10^3$ энтеробактерий. Не допускается наличие <i>Escherichia coli</i> в 1.0 г и <i>Salmonella</i> в 10.0 г	соответствует	соответствует	соответствует
Количественное определение	Спектрофотометрия; ГФ РК I, т. 1, 2.2.25	Сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид Не менее 6,0 %	6,50	6,47	6,46

В. На стартовую линию хроматографической пластинки «Sorbfil» (ПТСХ-АФ-А-УФ) 7,5 x 15 мм наносят 20 мкл (0,02 мл) испытуемого раствора, рядом 5 мкл (0,005 мл) стандартного образца цинарозида 0,1 % раствора. Пластинку высушивают на воздухе 5 минут, помещают в камеру с залитой системой растворителей: кислота муравьиная-вода очищенная-этилацетат (15:15:70) и проводят хроматографирование восходящим способом (смесь растворителей используют свежеприготовленной и вносят в камеру перед хроматографированием непосредственно). При прохождении фронта растворителя до конца пластинки, пластинку вынимают, сушат в вытяжном шкафу до удаления запаха растворителей, далее обрабатывают спиртовым раствором алюминия хлорида 2 %, высушивают. На хроматограмме стандартного образца цинарозида появляется пятно желтого цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаружиться пятно желтого цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образца цинарозида.

*Потеря в массе при высушивании.* Не более 0.5% (ГФ РК I, Т. 1, 2.2.32).

*Тяжелые металлы.* Не более 0,01 % (ГФ РК, Т. 1, с. 558 2.4.8, метод А).

*Остаточные количества органических растворителей (этанол).* Не более 0.5 % (ГХ, ГФ РК, Т. 1, 2.2.28). Содержание  $C_2H_5OH$  (этанола) в субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» должно быть не более 0,5 %.

*Микробиологическая чистота.* Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13.

В 1 г субстанции допускается наличие общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12): не более  $10^3$  бактерий и не более  $10^2$  грибов в грамме или миллилитре.

В 1 г субстанции не допускается наличие *Escherichia coli* (2.6.13).

*Количественное определение.* Определение проводят методом УФ-спектрофотометрии (ГФ РК I, т. 1, 2.2.25).

Точную навеску (около 0,050 г) субстанции помещали в колбу вместимостью 25,0 мл, растворяли в 20,0 мл спирта этилового 70% и доводили тем же растворителем до метки (раствор А).

В мерную колбу объемом 25,0 мл, помещали 5,0 мл раствора А, приливали 5,0 мл раствора алюминия хлорида 5% в спирте этиловом 70%, выдерживали 10 минут и далее приливали 1,0 мл раствора кислоты уксусной 3%. Объем полученного раствора доводили спиртом этиловым 70% до метки и оставляли на 30 минут (раствор В).

Далее проводят измерение оптической плотности раствора В на спектрофотометре в кювете с толщиной рабочего слоя 10,0 мм при длине волны  $395 \pm 2$  нм.

В качестве раствора сравнения выступал раствор, состоящий из 5,0 мл раствора А, 1,0 мл раствора кислоты уксусной 3% и доведенный спиртом этиловым 70% до метки в мерной колбе вместимостью 25,0 мл.

Содержание суммы флавоноидов, в пересчете на цинарозид, в процентах (X) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25 \times 100}{E_{1\%/1\text{cm}} \times m \times 5 \times (100 - W)} ;$$

где D - оптическая плотность исследуемого раствора (раствора В);

$E_{1\%/1\text{cm}}$  – удельный показатель поглощения цинарозида с алюминия хлоридом в спирте этиловом 70%;

m – навеска субстанции, г;

5 - аликвота раствора А, мл;

25 - объем раствора А, мл;

25 - объем раствора В, мл;

W - потеря в массе при высушивании субстанции, %.

По результатам проведения выходного контроля – оценки качества, установлено, что три серии субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствуют требованиям проекта АНД (Приложения Г-Е).

#### **4 Разработка стратегии контроля технологического процесса получения и оценки качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»**

Стратегия контроля качества для определенного лекарственного препарата формируется на этапе его разработки, и содержит показатели качества исходного сырья, основных и вспомогательных материалов, параметры работы технологического оборудования, оценку качества лекарственного средства и результаты переконтроля [2].

В свою очередь, в стратегию контроля рационально ввести оценку разницы результатов входного контроля и данных документов, предоставленных поставщиком, результатов межоперационного и выходного контроля, и других.

С целью оценивания стабильности процесса, предполагается использовать формализованный план по сбору необходимой информации [2].

Стратегия контроля качества лекарственных средств обязана вовремя делать доступной обратную связь, также нужные корректирующие и предупреждающие действия, на основании методологии управления рисками по качеству. Углублению осмысления процессов, диапазонов проектных параметров, природы и критичности отклонений, способствуют знания, приобретенные в ходе мониторинга процессов и оценки качества лекарственных средств, которые в том числе предоставляют возможность применения новых подходов к валидации процессов [2].

Выбор стратегии контроля осуществляется на основании наличествующих знаний о готовом продукте и технологическом процессе. Производители должны оценить уровень личного осознания процесса и лекарственного средства, осознавать источники вариаций, определять наличие и степень вариации, осознавать их воздействие на процесс, и в результате, на показатели качества препарата, мониторить вариации в зависимости от уровня их влияния на технологический процесс и готовый продукт. Оценивание и интерпретация параметров и показателей, полученных в результате стратегии контроля ЛС, проводится с использованием общеизвестных методов. Обоснованием добросовестной реализации производителем своих обязательств по гарантированию качества лекарственных средств является соответствующее документированное оформление результатов мониторинга [2].

На основании полученных результатов, разработана стратегия контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой», которая включает следующие основные этапы многоступенчатого контроля (рисунок 6):

*Входной контроль* - проверка качества сырья тимьяна частолистого на соответствие требованиям проекта АНД РК и вспомогательных материалов на соответствие НТД.

*Межоперационный контроль* - проверка соблюдения технологических режимов и параметров в соответствии с лабораторным регламентом на получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

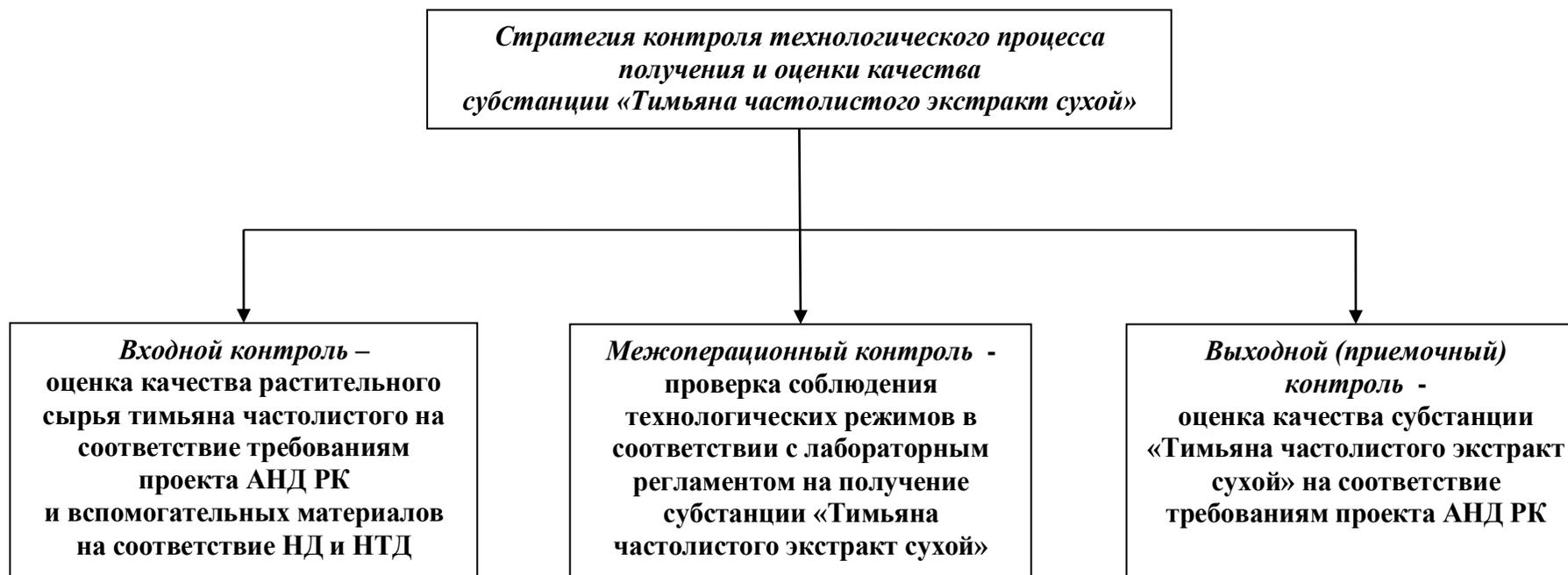


Рисунок 6 – Структура стратегии контроля технологического процесса получения и оценки качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»

*Выходной контроль* - установление соответствия качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» требованиям проекта АНД РК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанных научно-исследовательских работ сформулированы следующие **выводы**:

1. Впервые определены параметры контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»: входной контроль - проверка качества сырья тимьяна частолистого на соответствие требованиям проекта АНД РК и вспомогательных материалов на соответствие НД и НТД; межоперационный контроль - проверка соблюдения технологических режимов в соответствии с лабораторным регламентом; выходной контроль - установление соответствия качества субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» требованиям проекта АНД РК.

2. Впервые определены контрольные точки для устранения (минимизации) риска на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

3. Впервые организован и проведен внутрипроизводственный контроль технологического процесса получения 3 серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой», в результате которого установлено, что сырье тимьяна частолистого и вспомогательные материалы соответствуют требованиям НД и НТД, фактически осуществляемая последовательность технологических этапов соответствует представленной в лабораторном регламенте, полученные серии субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствуют требованиям проекта АНД РК.

4. Разработана стратегия контроля технологического процесса, применение которой позволяет обеспечить получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствующего качества.

**Оценка полноты решения поставленных задач.** Поставленные задачи по определению параметров контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»; определению контрольных точек технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой»; разработке стратегии контроля технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой», реализованы в полном объеме.

**Разработка рекомендаций и исходных данных по конкретному использованию результатов.** Полученные результаты дипломной работы представляют теоретическое и практическое значение. Впервые организован и проведен внутрипроизводственный контроль технологического процесса получения 3 серий субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой», в результате которого установлено, что сырье тимьяна частолистого и вспомогательные материалы соответствуют требованиям НД и НТД, фактически осуществляемая последовательность технологических этапов соответствует представленной в лабораторном регламенте, полученные серии

субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствуют требованиям проекта АНД РК. Впервые определены параметры контроля на всех этапах технологического процесса получения субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» и контрольные точки для устранения (минимизации) риска на всех этапах технологического процесса получения субстанции. Разработана стратегия контроля технологического процесса, применение которой позволяет обеспечить получение субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» соответствующего качества. Результаты данной дипломной работы могут быть использованы в технологии фармацевтического производства и фармации.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ковалева Е.К. Анализ критических стадий в производстве лекарственных средств из растительного сырья: диссертация ... кандидата фармацевтических наук: 14.04.01 - Москва, 2014.- 139 с.
2. Александров А.В. Система мониторинга процессов и качества лекарственных средств в соответствии с GMP // Промышленное обозрение. Фармацевтическая отрасль. - 2009. - №6 (17). - С. 32-34.
3. Патент РК № 34162 на изобретение от 11.02.2020. Применение сухого экстракта тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Klok.) в качестве антимикробного средства широкого спектра действия // Ахметалимова А.М., Бокаева А.Б., Ивасенко С.А., Ахметова С.Б., Лосева И.В.
4. Шимановский Н., Гринченко А. Роль оборудования в обеспечении качества лекарственных препаратов // Новости GMP. – 2017, №1(12). - <https://gxpnews.net/2017/12/rol-oborudovaniya-v-obespechenii-kachestva-lekarstvennyx-preparatov/>.
5. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP). ОСТ 42-510-98.
6. Перязева (Ковалева) Е.К., Марченко С.Д., Иванов А.И., Андреева Д.М. Классификация процессов фармацевтического предприятия // Фармация. - 2010. - №8. - С.34-35.
7. Перязева (Ковалева) Е.К., Иванов И.А., Андреева Д.М. Основные возмущающие факторы, воздействующие на процессы производства лекарственных средств на фармацевтическом предприятии // Матер. XVII Росс.нац. конгресса «Человек лекарство», Москва, 2010. - С.697.
8. Перязева (Ковалева) Е.К., Иванов А.И., Марченко С.Д., Андреева Д.М. Производство сухого экстракта на основе процессного подхода // Матер. Российской научно-практической конференции «Создание лекарственных средств на основе продуктов природного происхождения», Пермь, 2010. - С. 151-154.
9. Иванов А.И., Перязева (Ковалева) Е.К., Марченко С.Д., Андреева Д.М., Бело-стоцкий А.В. Формирование системы стандартных операционных процедур фармацевтических предприятий // Фармация. - 2011. - №3. - С.37-39.
10. Береговых В.В., Ковалева Е.К. Особенности формирования технологических схем для производства препаратов из растительного сырья // Матер, международной заочной научно-практической конференции «Современная медицина: тенденции развития», Новосибирск, 2012. - С.100-104.
11. Ковалева Е.К., Пятигорская Н.В., Самылина И.А., Сапожникова Э.А. Особенности подготовки производства нестерильных лекарственных средств // Фармация. - 2013. - №7. - С. 29-32.
12. Береговых В.В., Ковалева Е.К. Разработка системы обеспечения качества с анализом критических стадий в производстве лекарственных средств из растительного сырья // Ремедиум. - 2013. - №10. - С 62-65.

13. Пятигорская Н.В., Самылина И.А., Береговых В.В. и др. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств из растительного сырья: уч.-метод. Пособие. - Спб.: СпецЛит, 2013. – 367 с.

14. Ковалева Е.К., Сапожникова Э.А., Самылина И.А., Пятигорская Н.В. Специфические требования к регламентам на растительное сырье и лекарственные препараты, получаемые на его основе // Матер. XX Росс. нац. конгресса «Человек и лекарство», Москва, 2013. - С. 354-355.

15. Ковалева Е.К., Сапожникова Э.А. Новые подходы к обеспечению качества лекарственных препаратов // Матер, научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине», Москва, 2013. - С.77-78.

16. Starchak Yu. A. Pharmacognostic study of plants of the genus *Thymus* (*Thymus* L.) as a promising source of phytopreparations. Thesis for the degree of Doctor of Pharmaceutical Sciences, specialty: 14.04.02 - pharmaceutical chemistry, pharmacognosy. - Kursk, 2016. - 440 p.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**  
**Протокол испытаний**

**ПРИЛОЖЕНИЕ Б**  
**Протокол испытаний**

**ПРИЛОЖЕНИЕ В**  
**Протокол испытаний**

**ПРИЛОЖЕНИЕ Г**  
**Протокол испытаний**

**ПРИЛОЖЕНИЕ Д**  
**Протокол испытаний**

**ПРИЛОЖЕНИЕ Е**  
**Протокол испытаний**