

Министерство образования и науки Республики Казахстан

Медицинский университет Караганды

Казанцев В.В.

**Валидация технологического процесса получения субстанции
«Тимьяна ползучего 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: Валидация технологического процесса получения субстанции
«Тимьяна ползучего экстракт сухой»**

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

Выполнил:

В.В. Казанцев

Руководитель:

Д.фарм.н., ассоц. профессор

С.А. Ивасенко

Караганда 2021

«Утверждаю»
Декан Школы фармации

«___» сентября 20__ г.

ЗАДАНИЕ
на выполнение дипломной работы (проекта)

Студенту Казанцеву Владимиру Витальевичу
IV курса, группы ТФП - 4004, дневной формы обучения

1. Тема дипломной работы (проекта): «Валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего 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», «Phytomedicine», «Pharmaceutical Research», «Pharmaceutical Statistics», «Pharmaceuticals», «Biological and Pharmaceutical Bulletin» и другие.

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

- составить план валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучий экстракт сухой»;
- осуществить валидацию технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» согласно валидационного плана;
- оформить протокол валидации технологический процесс получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

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

Привести рисунки технологической и аппаратурной схем получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», таблицы, включающие результаты валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

6. Перечень основной рекомендуемой литературы: 1) «Фармация Казахстана», 2) «Фармация», 3) «Ратительные ресурсы», 4) «Phytomedicine», 5) «Pharmaceutical Research», 6) «Pharmaceutical Statistics», 7) «Pharmaceuticals», 8) «Biological and Pharmaceutical Bulletin».

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 _____ Казанцев В.В.
подпись

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
Введение.....	8
1 Литературный обзор. Валидационные мероприятия на фармацевтическом производстве	10
2 Материалы и методы исследований	15
2.1 Материалы исследований	15
2.2 Методы исследований.....	16
3 План валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».....	18
4 Валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»	19
4.1 Цель валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».....	19
4.2 Определение процесса	19
4.2.1 Метод получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».....	19
4.2.2 Технологическая схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».....	21
4.3 Перечень оборудования используемого в процессе получения субстанции	21
4.4 Спецификация анализа отдела контроля качества	27
4.5 Оценка риска	27
4.6 План отбора проб.....	30
4.7 Определение серии валидации.....	30
4.8 Цель отчета.....	31
4.9 Результаты валидации технологического процесса.....	31
4.9.1 Готовый продукт – оценка качества субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».....	31
4.10 Отклонение.....	36
4.11 Вывод.....	36
Заключение.....	38
Список использованной литературы	40
Приложения.....	42

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В дипломной работе использованы 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_м – контроль микробиологический

К_т – контроль технологический

К_х – контроль химический

кг – килограмм

ЛР – лабораторный регламент

мкл – микролитр

мкг - микрограмм

мл – миллилитр

М_г – 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

ФС – фармакопейная статья

ФСО – фармакопейный стандартный образец

х.ч. – химически чистый

ч.д.а. – чистый для анализа

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Валидация – это неотделимая часть обеспечения качества, но применение данного термина в отношении фармацевтического производства часто вызывает затруднения. Валидация относится к регулярному изучению систем, технических средств и процессов, для установления, осуществляются ли они корректно и выполняют стабильно предназначенные для них функции. Валидированный технологический процесс – это процесс, который имеет документированное подтверждение, что он демонстрирует высокую степень гарантии того, что однородные серии продукции будут производиться в соответствии с требованиями нормативных документов.

Валидация технологического процесса - это средство обеспечения и предоставления документального подтверждения того, что процессы (в пределах предварительно установленных параметров) способны постоянно обеспечить получение готовой продукции требуемого качества. Технологический процесс для новых препаратов подлежит обязательной валидации и должен быть завершён до начала его реализации (перспективная валидация). Валидацию проводят как минимум на 3 идущих подряд сериях для установки вариации процесса, возможных тенденций и обеспечения необходимого количества данных для оценки процесса.

В Школе фармации НАО «МУК» разработан новый способ получения сухого экстракта из тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.), который за счет применения ультразвуковой экстракции, характеризуется высокой производительностью технологического процесса, низким расходом экстрагента, исключением трудоемких и времязатратных процедур, что делает его доступным, рациональным и экономичным. Кроме того, впервые установлено, что ультразвуковой экстракт тимьяна ползучего обладает выраженным антибактериальным действием в отношении *Helicobacter pylori*, при этом не токсичен, поэтому является перспективной субстанцией для создания лекарственных средств для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний [1-3]. Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» (ЛР-2387-1930-01-ГП-05-18), в соответствии с которых производится наработка опытных партий для дальнейших фармацевтических и фармакологических работ.

Поэтому для обеспечения качества субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» проведение валидации технологического процесса ее получения является важной и актуальной задачей.

Современное состояние решаемой научной проблемы. Валидация процесса производства это документированное подтверждение того, что процесс реализуется эффективно, в пределах заданных параметров, и может стабильно приводить к получению лекарственного средства, соответствующего качества.

Валидация процессов не является разовым событием. Валидация должна сопровождать лекарственное средство на протяжении всего жизненного цикла, включая разработку продукта и процесса, валидацию коммерческого производственного процесса, поддержание процесса в контролируемом состоянии в ходе рутинного промышленного производства.

Технологический процесс для новых препаратов подлежит обязательной валидации и должен быть завершен до начала его реализации (перспективная валидация). Валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» проведена впервые.

Целью дипломной работы является провести валидацию технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

В соответствии с поставленной целью исследования определены следующие **задачи**:

- составить план валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучий экстракт сухой»;
- осуществить валидацию технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» согласно валидационного плана;
- оформить протокол валидации технологический процесс получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

Научная новизна работы. Впервые составлен план валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучий экстракт сухой», который включает 11 основных этапов.

Впервые проведена валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», согласно валидационного плана, на 3 последовательно идущих сериях.

При оценке рисков установлены критичные технологические стадии получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»: это подготовка сырья, экстрагента и получение сухого экстракта, так как меньшее содержание суммы флавоноидов в растительном сырье может привести к меньшему содержанию суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и изменению биологического действия.

Практическая значимость работы. Впервые проведена валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», в результате которой подтверждена высокая стабильность технологического процесса и выбранных технологических параметров получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» соответствующего качества.

Оформлен протокол валидации технологический процесс получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Валидационные мероприятия на фармацевтическом производстве

Стратегически важной отраслью является производство лекарственных препаратов, которая обеспечивает защищенность национальных интересов Казахстана в сфере обращения лекарственных средств. Самой важной задачей фармацевтической отрасли является снабжение здравоохранения и населения отечественными высокоэффективными и безопасными лекарственными препаратами и обеспечение лекарственной независимости государства [4].

На основе Закона РК «О техническом регулировании» и Указом Президента Республики Казахстан №1438 от 13 сентября 2004 года «О государственной программе реформирования и развития здравоохранения Республики Казахстан на 2005-2010 гг.» Комитетом фармации, РГП «Национальный центр экспертизы лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» МЗ РК разработаны государственные стандарты управления качеством: GMP (надлежащая производственная практика), GCP (клинические исследования), GPP (розничная торговля), GDP (оптовая торговля), GLP (лабораторные исследования). С 1 января 2008 года, в соответствии с указом, разработанные стандарты введены в действие и носят рекомендательный характер [4, 5-9].

Фармакопея носит законодательный характер и обеспечивает качество лекарственных средств. Тем не менее, с середины XX века возникла необходимость в своде дополнительных документов. Свод документов - правила GMP - Good Manufacturing Practice является не заменой фармакопеи, а, ее дополнением, они предназначены для достижения одной конечной цели - обеспечение населения лекарственными средствами высокого качества [4, 10, 11].

Правила GMP были разработаны в 1963 году в США, основанием для этого послужило обнаружение некачественных лекарственных препаратов. Концепция GMP в 70-х годах приобрела обширное признание во всем мире. Согласно статистике ВОЗ, во многих странах, которые занимаются производством лекарственных средств, приняты принципы GMP. При этом, в разных странах функционируют или Международные правила GMP ВОЗ, или региональные правила GMP - стран Европейского Союза, или правила GMP членом Ассоциации стран Юго-Восточной Азии - АСЕАН, или правила GMP стран-участников "Соглашения по фармацевтическому контролю", или национальные правила GMP: США, Канады, Италии, Великобритании, Австралии, России, Китая и других [4].

Правила GMP включают восемь разделов, в независимости от того, являются ли они национальными, региональными или международными. Стандарты GMP определяют требования к процессу производства и регламентируют контроль качества лекарственных средств, для человека и животных, охватывают все виды лекарственных препаратов [4].

Особое значение имеет восьмой раздел правил GMP, который называется «Валидация» (validation - ратификация, подтверждение). Понятие «Валидация» представляет собой комплекс мероприятий, результатом реализации которых является документальное подтверждение того, что выполнение установленных процедур производства, контроля качества и других, гарантированно обеспечивает необходимый уровень качества продукции. Наиболее широкое определение валидации представлено в стандартах серии ISO 9000: «Валидация - подтверждение посредством представления объективных доказательств того, что требования, предназначенные для конкретного предполагаемого использования или применения, выполнены» [4, 12].

Термин «валидация», который используется в отечественных нормативных документах, имеет аналогичное значение, как в документах ЕС и США. Например, в руководстве ВОЗ, валидация обозначена как процесс «получения документированного доказательства, которое с высокой степенью уверенности подтверждает, что определенный процесс будет стабильно выпускать продукт, соответствующий заранее установленным спецификациям и критериям качества» [4, 13].

Квалификация (Qualification) является начальным этапом реализации валидации – это оценка и документальное подтверждение того, что проектная документация, оборудование, инженерные системы и другие условия производства гарантируют достижение ожидаемых и воспроизводимых результатов. Квалификация – это составная подготовительная часть процесса валидации, кроме того, является оценкой соответствия технического обеспечения производственного процесса [4].

Стадии квалификации:

- Квалификация дизайна (design qualification - DQ). Осуществляется проверка и оценка документации, условий производства (оборудование, инженерные системы, помещения и др.) на соответствие требованиям нормативной и технической документации. На данном этапе заканчивается процесс проектирования. Нужно заметить, что все аспекты качества полностью анализируются именно на стадии проекта. Целью является гарантирование того, что все требования для анализируемых систем были определены в самом начале [4].

- Квалификация установки (installation qualification - IQ). Осуществляется контроль и оценка качества монтажа/установки технологического и лабораторного оборудования, инженерных систем, (чистых) помещений и др. Целью является гарантирование, что все аспекты (статические признаки) для оснастки или оборудования определены точно и согласно с первоначальным проектом [4].

- Операционная квалификация (operational qualification - OQ). Проводится проверка и оценка работоспособности технологического и лабораторного оборудования, инженерных систем, оснащенных (чистых) помещений и др. Целью является гарантирование, что все динамические параметры отвечают первоначальному проекту [4].

- Квалификация эксплуатации (performance qualification - PQ). Осуществляется проверка и оценивание надежности и эффективности эксплуатационных параметров технологического оборудования, инженерных систем, функционирующих (чистых) помещений и др. Целью является гарантирование, что критерии обозначены и могут соблюдаться надежно и стабильно [4].

Валидация процессов (process validation - PV) - это заключительный этап валидации, который осуществляется по завершению выполнения всех стадий квалификации условий производства (оборудование, инженерные системы, помещения и др.) в зависимости от вида валидации. PV проводят индивидуально для каждого процесса, анализируя не менее трех серий реального продукта [4].

Как установлено из представленных определений, квалификация, в отличие от валидации, не связана с конкретным продуктом. Квалификация является своеобразной оценкой соответствия технического обеспечения производственного процесса [4].

Объектами валидации являются:

- технологические процессы;
- аналитические методы;
- процессы очистки оборудования, коммуникаций и др.;
- процессы санитарной обработки помещений и др.;
- технологическое и лабораторное оборудование;
- инженерные системы, оказывающие непосредственное влияние на качество полупродукта и готового продукта (обеспечение чистым воздухом, водой, паром, инертным газом, сжатым воздухом и др.);
- "чистые" помещения и зоны, "холодные" комнаты и др.;
- компьютерные системы, связанные с процессом и контролем производства [4].

Валидации не подлежат: оборудование, не влияющее на качество полупродукта и/или готового продукта; инженерные системы, непосредственно не влияющие на качество продукта, но обеспечивающие устойчивость процесса производства (системы энергообеспечения, паро- и водоснабжения и др.); общие конструктивные элементы зданий и помещений; вспомогательные компьютерные системы, непосредственно не связанные с процессом производства [4, 14].

Виды валидации:

- перспективная валидация осуществляется на впервые вводимом или после реконструкции производстве до начала его пуска. В ходе реализации перспективной валидации непременно проводятся все стадии квалификации (DQ, IQ, OQ, PQ) и валидация процессов и аналитических методов [4];

- сопутствующая валидация реализуется подобно перспективной, только в ходе серийного производства, если валидация не проводилась ранее. Сопутствующая валидация может использоваться для процессов с историей стабильного качества. При осуществлении сопутствующей валидации

необходимо выполнение всех стадий квалификации (DQ, IQ, OQ, PQ), также проведение валидации процессов и аналитических методов [4];

- ретроспективная валидация осуществляется в ходе серийного производства нестерильных лекарственных средств (если валидация не была проведена ранее) при условии, что существуют документально подтвержденные данные о производстве как минимум 10-25 серий продукции за 12 месяцев, для того, чтобы было достаточное количество предоставленных данных для формирования ретроспектив [4];

- повторная валидация (ревалидация) реализуется в плановом порядке до начала производства при изменении документации и/или условий производства, которые оказывают влияние на качество полупродукта и готового препарата. Объем работ по валидации формируется организацией на основе внесенных изменений [4].

В зависимости от ситуации, фармацевтическое предприятие самостоятельно устанавливает какую работу по валидации нужно осуществить для обеспечения качества и безопасности готового продукта [4, 15].

Основным документом планирования валидации является валидационный мастер-план (ВМП), который утверждается руководителем предприятия. ВМП включает следующую информацию, какие производственные процессы, инженерные системы, производственное и лабораторное оборудование, методы анализов и испытаний, информационные системы необходимо валидировать для обеспечения качества продукции, производимой предприятием и ресурсов, задействованных для этого. ВМП должен быть краток и читабелен, поскольку он является руководящим принципом для персонала при проведении валидации. Также, ВМП является исходным документом для государственных инспекторов. ВМП позволяет руководству предприятия владеть информацией, что включено в программу по валидации, нужные для этого временной период и денежные средства, состав исполнителей и привлекаемых организаций или экспертов. Члены группы по валидации должны знать свои задачи и осознать ответственность. Инспектора GMP должны понимать подход предприятия к валидации, структуру и организацию всей работы по валидации. Сроки выполнения ВМП могут быть изменены, в случае, если он не может быть реализован в указанные сроки, по причине экономического положения предприятия [4, 16].

В ходе реализации валидации оформляется протокол - подробный документ, затрагивающий каждый этап процесса валидации. В нем обозначаются испытания, которые необходимо провести, критерии приемки и информация, которую нужно зарегистрировать.

По завершению валидации формируется отчет, который позволяет принять решение об оценке процесса. Осуществляется статистический анализ данных, графиков, диапазон значений критических параметров, в том числе анализ значений помимо установленного диапазона. Фиксируются отклонения, и проводится оценка их влияния на результаты валидации. Заканчивается отчет заключением по результатам валидации, представлением рекомендаций и

предложений. Проверка и согласование отчета о валидации осуществляются сотрудниками, которые проводили согласование протокола [4, 18].

В заключении необходимо отметить, что валидация это сложный и трудоемкий процесс. Реализация валидационных мероприятий обязывает проводить скрупулезную разработку валидационной документации, высокой квалификации специалистов, знания технологических процессов, использования дорогостоящего аппаратного и приборного оснащения. Однако, планирование и реализация валидации, в настоящее время, это обязанность производителей лекарственных средств и обязательным условием для выдачи лицензии [4].

Поэтому проведение валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» является важной и актуальной 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:

Технологический процесс получения «Тимьяна ползучего экстракт сухой» (лабораторный регламент ЛР-2387-1930-01-ГП-05-18).

Растительное сырье. Лекарственное растение траву тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) собирали в горно-лесном массиве Каркаралинска (N 49°38395'; E 75°47577') в июне 2020 г., в фазу полного цветения.

Субстанция «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

Стандартный образец цинарозида.

Реактивы и растворители:

В экспериментальных исследованиях использованы химические реактивы и растворители квалификации «о.с.ч.», «х.ч.», «ч.д.а.».

Этилацетат. C₄H₈O₂. (M_r 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. C₂H₅ОН. (M_r 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. H₂O. (M_r 18, 02). 1095500. [7732-18-5]. Вода, предназначенная для приготовления лекарственных средств, кроме стерильных и апирогенных, при отсутствии других указаний. (ГФ РК, том II, с. 168).

Алюминия хлорид. AlCl₃·6H₂O (M_r 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_r 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. C₂H₄O₂. (M_r 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. CH₂O₂ (Mr 46.03). 1039300. [64-18-6]. Содержит не менее 98.0 % (м/м) CH₂O₂. 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 «Тимьяна ползучего экстракт сухой», в пересчете на цинарозид, проводили методом дифференциальной спектрофотометрии с добавлением комплексообразователя AlCl₃ на спектрофотометре Implen Nanophotometr P 330 (Implen GmbH, Германия) по методике [16] с некоторыми модификациями.

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±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%/1cm} – 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, %.

Химические методы:

Точную навеску 0,02 г субстанции 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;

3 План валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Валидация процесса производства является документированным подтверждением того, что процесс в пределах установленных параметров может выполняться эффективно и воспроизводимо приводить к получению лекарственного препарата, соответствующего установленным спецификациям и показателям качества.

Для проведения валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», нами был разработан план, который состоит из следующих этапов:

1. Цель.
2. Определение процесса.
 - 2.1. Метод получения.
 - 2.2. Технологическая схема получения.
3. Перечень оборудования используемого в процессе.
4. Спецификация анализа отдела контроля качества.
5. Оценка риска.
6. План отбора проб.
7. Определение серий валидации.
8. Цель отчета.
9. Результаты.
 - 9.1. Готовый продукт.
10. Отклонение.
11. Вывод.

В соответствии с разработанным планом, будет проведена перспективная валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», которая должна быть проведена до начала серийного производства лекарственного средства. Валидация технологического процесса позволяет засвидетельствовать, что процесс разработан правильно и способен обеспечивать соответствующее качество готового продукта.

4 Валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

4.1 Цель валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Целью осуществления перспективной валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», является доказательство того, что процесс разработан правильно и способен обеспечивать соответствующее качество готового продукта, до начала серийного производства лекарственного средства.

4.2 Определение процесса

4.2.1 Метод получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

1 ЭТАП: Подготовка сырья, экстрагента

Сушка травы тимьяна ползучего

Надземная часть (соцветия, цветочные корзинки, листья, тонкие стебли) тимьяна ползучего сушится в специальном сухом помещении с хорошей циркуляцией воздуха и отсутствием прямых солнечных лучей (ВР 1.1 Кт).

Измельчение сырья тимьяна ползучего

Из сухого сырья тимьяна ползучего удаляются грубые стебли. Цветочные корзинки и листья измельчают на ножевой мельнице для тонкого измельчения до 2-3 мм (ВР 1.2 Кт).

Просевка сырья тимьяна ползучего

Сухое измельченное сырье тимьяна ползучего просеивают через сита с диаметром отверстий 5 мм (ВР 1.3 Кт).

Проводится стандартизация сухого измельченного просеянного сырья тимьяна ползучего на соответствие требованиям проекта АНД РК (ВР 1.3 Кх, Км).

Определение массы сырья

Сухое измельченное просеянное сырье тимьяна ползучего взвешивают на весах электронных АУ120 по 40,0 г (ВР 1.4 Кт).

Приготовление экстрагента

В две бутылки объемом по 1 литру приливают по 448,78 г 96 %-ного этанола и 240 г воды очищенной, перемешивают. Общая масса экстрагента 1377,56 г (ВР 1.5 Кт).

2 ЭТАП: Получение жидкого экстракта

Загрузка сырья и экстрагента

40,0 г травы тимьяна ползучего, помещают в емкость для экстрагирования сырья, затем заливают заранее приготовленный экстрагент – смесь этиловый спирт:вода (7:3) в количестве 800 мл, соотношение сырья массы и объема экстрагента 1:20 (ТП 1.1 Кт).

Экстракция сырья

Ультразвуковую экстракцию сырья тимьяна ползучего проводят без замачивания на установке Ultrasonic cleaner при частоте ультразвукового излучения 40 кГц, при комнатной температуре (20-22°C), в течение 30 минут. Затем жидкий экстракт сливают и экстракцию сырья повторяют еще 1 раз при тех же условиях (ТП 1.2 Кт).

Фильтрация жидкого экстракта

Объединенный жидкий экстракт тимьяна ползучего фильтруют через бумажный фильтр (ТП 1.3 Кт).

Упаривание экстрагента

Жидкий экстракт заливают в роторный испаритель. В роторном испарителе проводится упаривание экстрагента при температуре 50°C (ТП 1.4 Кт).

3 ЭТАП: Получение субстанции

Упаривание остаточного растворителя

Из густого экстракта выпаривают остаточный растворитель на водяной бане при температуре 70°C (ТП 2.1 Кт).

Выход субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» составляет 14,00 % в пересчете на воздушно-сухое сырье (ТП 2.1 Кт).

Проводится стандартизация субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» на соответствие требованиям проекта АНД РК (ТП 2.1 Кх, Км).

Взвешивание субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Полученную субстанцию «Тимьяна ползучего экстракт сухой» взвешивают по 1,0 г (ТП 2.2 Кт).

4 ЭТАП: Упаковка и маркировка

Фасовка

Продукт упаковывают по 1 г во флаконы из стекла типа АБ-1 или НС-1 (объем флаконов 10 мл) по ТУ 9461-025-00480678-99. Флаконы укупорены резиновыми пробками, изготовленными по ТУ 38006108-76 следующих марок ИР-119, ИР-119А (серого или черного цвета). Крышка и часть горловины закатывают алюминиевыми колпачками. На флаконах наклеены этикетки из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86. Групповая упаковка и транспортная тара по ГОСТ 17768-90Е (УМО 1.1 Кт).

Маркировка

На этикетке указано наименование и адрес предприятия-изготовителя, его товарный знак, название препарата на латинском, государственном и русском языках, количество препарата, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности. Надписи на упаковочном листе соответствуют ГОСТ 17768-90Е. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96 (УМО 1.2 Кт).

4.2.2 Технологическая схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Технологическая схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» приведена на рисунке 1.

4.3 Перечень оборудования используемого в процессе получения субстанции

На рисунке 2 представлена аппаратная схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

В таблице 1 приведен перечень оборудования используемого при получении субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой». Ведомость спецификации оборудования с техническими характеристиками представлена в таблице 2.

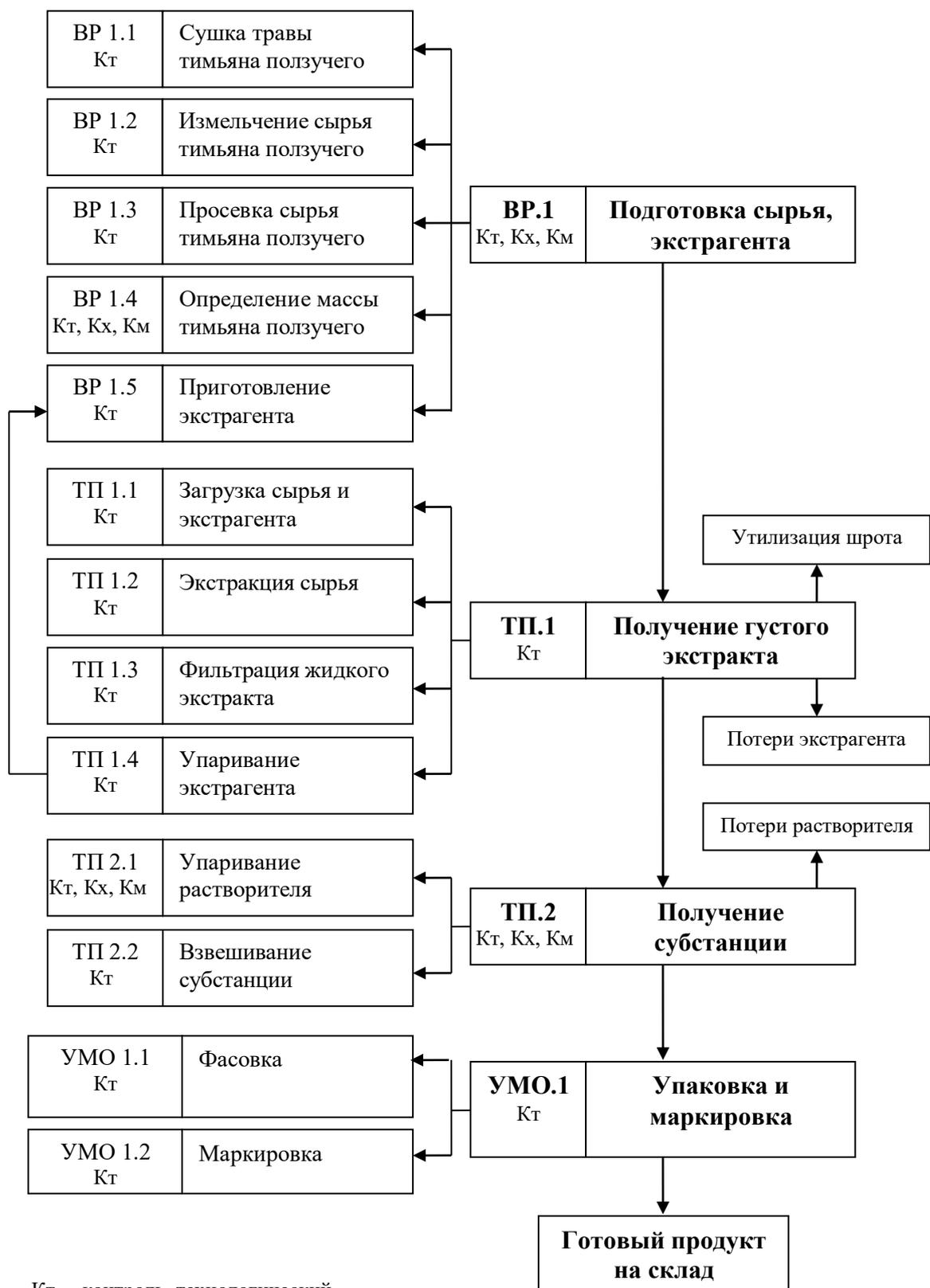


Рисунок 1 - Технологическая схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

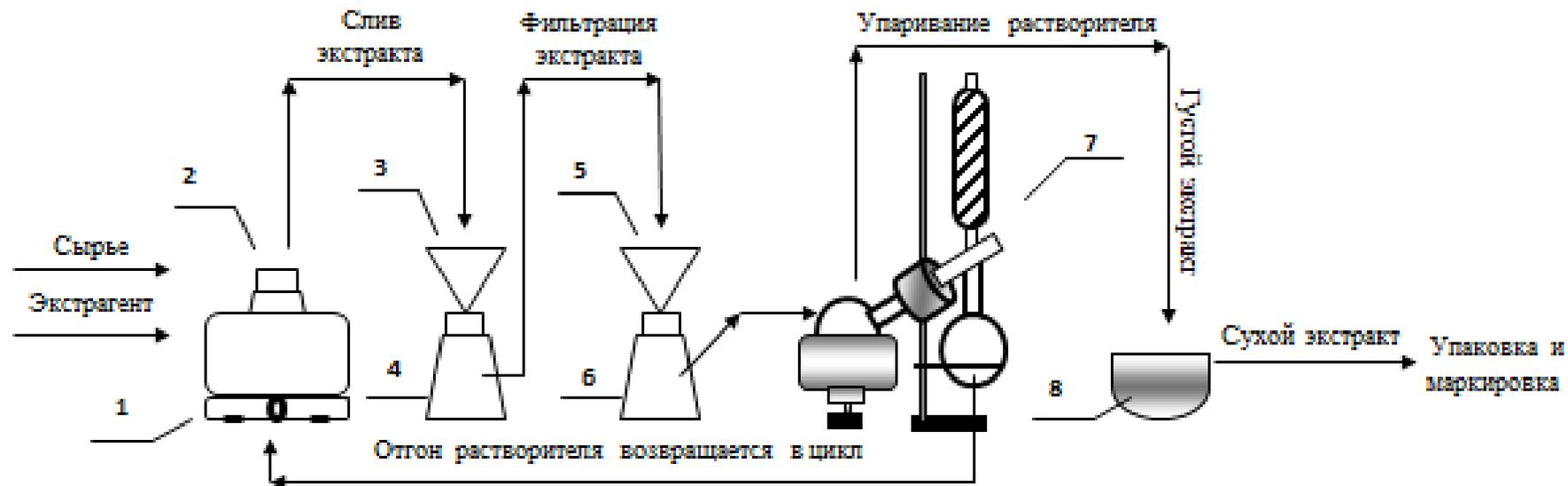


Рисунок 2 - Аппаратурная схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Таблица 2 - Перечень использованного оборудования используемого при получении субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Обозначения	Наименование	Количество
-	Ножевая мельница для тонкого измельчения	1
-	Сито	2
-	Весы медицинские	1
1	Баня ультразвуковая	1
-	Весы неавтоматического действия Navigator	1
7	Испаритель ротационный LABTEX ИР-1 ЛТ	1
-	Весы электронные Shimadzu AY 120	1
-	Цилиндр мерный	4
-	Бутыль стеклянная	4
3, 5	Воронка коническая	4
4, 6	Колба коническая	4
2	Колба круглая, плоскодонная	4
-	Колба круглодонная, термостойкая	2
-	Баня водяная	1
8	Чашка выпарительная фарфоровая	4

Таблица 3 - Ведомость спецификации оборудования с техническими характеристиками

Наименование	Количество единиц	Материал рабочей зоны, способ защиты	Техническая характеристика
1	2	3	4
Ножевая мельница для тонкого измельчения	1	Сталь	CS 500/1000-6Z. Германия. Пропускная способность 100кг/ч, конечная дисперсность 90% менее 2-5мм, номинальная мощность 75 кВт/ч
Сито	2	Сталь	ГОСТ 214-83 номинальный размер отверстий 5.0 ± 0.090
Весы неавтоматического действия	1	-	Navigator 51262-12. Китай. Максимальная нагрузка - 510 г, цена деления - 0,1 г
Баня ультразвуковая	1	Нержавеющая сталь	Ultrasonic cleaner. Польша. Объем 2,8 л. Диапазон контролируемых температур от 30 до 80°C. Мощность нагрева 150 Вт. Габаритные размеры 265x165x230 мм. Мощность ультразвука (пик / период) 2x160 Вт. Частота 40 кГц.
Весы электронные	1	-	Shimadzu AY 120. Япония. Максимальная нагрузка - 510 г, цена деления - 0,1 г
Испаритель ротационный	1	Стекло	ЛАВТЕХ ИР-1 ЛТ. Россия. Объем испарительной колбы 1000 мл. Диапазон скорости вращения 20 - 280 об/минуту. Диапазон контролируемых температур от 25 до 180°C. Габаритные размеры 465x457x583 мм.
Цилиндр мерный	4	Стекло	цилиндр мерный 250 мл, ГОСТ 1770-74
Бутылка стеклянная	4	Стекло	бутылка стеклянная 10117-91
Воронка коническая	4	Стекло	В-25-38 ХС, ГОСТ 25336-82
Колба коническая	4	Стекло	Колба Кн-1-1000-29/32 ТС ГОСТ 25336-82

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4
Колба круглодонная термостойкая	2	Стекло	К-1-1000-29/32, ГОСТ 25336-82
Баня водяная	1	Алюминий	V=1 л
Чашка выпарительная фарфоровая	4	Фарфор	ГОСТ 9147-80

4.4 Спецификация анализа отдела контроля качества

Спецификация анализа отдела контроля качества представлена в таблице 4.

Таблица 4 - Спецификация анализа отдела контроля качества

Наименование	Этап	Методы испытаний
Описание	3	Визуально Густая масса темно-зеленого цвета со специфическим запахом
Растворимость	3	ГФ РК I, т. 1, 1.4
Идентификация цинарозида, флавоноидов	3	ТСХ, качественная реакция
Вода	3	ГФ РК I, т. 1, 2.5.12
Тяжелые металлы	3	ГФ РК, т. 1, с. 558 2.4.8, метод А
Остаточные количества органических растворителей (этанол)	3	ГХ; ГФ РК I, т. 1, 2.2.28
Микробиологическая чистота	3	ГФ РК, Т. 1, 5.1.4 Категория 3; 2.6.12 и 2.6.13
Количественное определение	3	Спектрофотометрия; ГФ РК I, т. 1, 2.2.29
Упаковка	4	Должна соответствовать требованиям АНД РК
Маркировка	4	Должна соответствовать требованиям АНД РК

4.5 Оценка риска

В результате оценки риска установлены критичные технологические стадии получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»: это подготовка сырья, экстрагента и получение сухого экстракта, так как меньшее содержание суммы флавоноидов в растительном сырье может привести к меньшему содержанию суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и изменению биологического действия.

На основании анализа технологической схемы была разработана блок-схема получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» (рисунок 3).

В таблице 5 приведены опасные факторы и предупреждающие действия при получении субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Результаты оценки риска представлены в таблице 6.

Таблица 5 - Опасные факторы и предупреждающие действия при получении субстанции «Тимьяна ползучего 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 ползучего	Сырье тимьяна ползучего	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 ползучего	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 $-0,9 \text{ кгс/см}^2$	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 5					
1	2	3	4	5	6
ТП 2.2 - Взвешивание субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»	Субстанция «Тимьяна ползучего 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 6 - Результаты оценки риска

Технологические стадии	Описание критичное не критичное	Параметры теста
1 ЭТАП: Подготовка сырья, экстрагента	Критичное	Меньшее содержание суммы флавоноидов в растительном сырье
2 ЭТАП: Получение жидкого экстракта	Не критичное	-
3 ЭТАП: Получение субстанции	Критичное	Меньшее содержание суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»
4 ЭТАП: Упаковка и маркировка	Не критичное	-

4.6 План отбора проб

В плане отбора проб указаны технологические стадии, на которых производится отбор проб для контроля качества (таблица 7).

Таблица 7 – План отбора проб для контроля качества

Технологические стадии	Анализ
1 ЭТАП: Подготовка сырья, экстрагента	Количественное определение суммы флавоноидов в растительном сырье
3 ЭТАП: Получение субстанции	Количественное определение суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»
4 ЭТАП: Упаковка и маркировка	Визуальный осмотр

4.7 Определение серии валидации

При определении серий валидации указываются № серии, дата производства и размер серии (таблица 8).

Таблица 8 – Определение серий валидации

№ серии	280321	290321	300321
Дата получения	28.03.21 г.	29.03.21 г.	30.03.21 г.
Размер серии	200 г	200 г	100 г

4.8 Цель отчета

Целью валидационного отчета является обеспечение документированное доказательство того, что технологический процесс получения субстанции протекает в соответствии с утвержденным лабораторным регламентом.

4.9 Результаты валидации технологического процесса

Впервые проведена валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», на трех последовательно идущих сериях, в результате которой подтверждена высокая стабильность технологического процесса и выбранных технологических параметров получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» соответствующего качества (таблица 9).

Таблица 9 - Результаты валидации технологического процесса

Этап	Анализ	Приемлемые критерии	Результаты		
			280321	290321	300321
1 ЭТАП: Подготовка сырья, экстрагента	Количественное определение суммы флавоноидов в растительном сырье	Содержание суммы флавоноидов в растительном сырье Не менее 2,0 %	5,21	5,25	5,29
3 ЭТАП: Получение сухого экстракта	Количественное определение суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»	Содержание суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» Не менее 8,0 %	9,48	9,52	9,50
4 ЭТАП: Упаковка и маркировка	Фасовка	Герметичность	Соответствует	Соответствует	Соответствует

4.9.1 Готовый продукт – оценка качества субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»

Оценку качества трех валидационных серий субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» согласно требованиям проект АНД РК. Показатели качества трех валидационных серий субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» представлены в таблице 10.

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.

Таблица 10 - Оценка качества валидационных серий субстанции «Тимьяна ползучего 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 %	4,5	4,3	4,4
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 %	0,3	0,3	0,3

Продолжение таблицы 10					
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 8,0 %	9,48	9,52	9,50
Упаковка	В соответствии с АНД РК	Должна соответствовать	соответствует	соответствует	соответствует
Маркировка	В соответствии с АНД РК	Должна соответствовать	соответствует	соответствует	соответствует

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).

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).

Раствор внутреннего стандарта. 0.5 мл пропанола Р доводят углерода тетрахлоридом Р до объема 100.0 мл.

Испытуемый раствор. Около 150 мг (точная навеска) субстанции ультразвукового экстракта тимьяна ползучего растворяют в 3 мл раствора внутреннего стандарта.

Раствор сравнения. По 0.5 мл этанола Р и пропанола Р помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят углеродом четыреххлористым Р до объема 100.0 мл и перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленными.

Хроматографирование проводят на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях:

- колонка капиллярная, размером 30 м x 0.25 мм, покрытая пленкой сополимера фенил-диметилполисилоксана (5:95) толщиной 0.25 мм;
- газ-носитель аргон для хроматографии, скорость 20 мл /мин;
- скорость водорода 40 мл /мин;
- скорость воздуха 400 мл /мин;
- температура колонки 30 °С;
- температура детектора 120 °С;
- температура испарителя 100 °С.

Хроматографируют 0,2 мкл раствора сравнения.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику этанола составляет не менее 30000 теоретических тарелок;
- коэффициент симметрии пика этанола составляет не более 2 %;
- относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика этанола составляет не более 2 %.

Хроматографируют 0,2 мкл испытуемого раствора.

Содержание этанола в субстанции в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot S_{on} \cdot f}{S_{In} \cdot S_0 \cdot m},$$

- где: S_1 – площадь пика этанола на хроматограмме испытуемого раствора;
 S_{In} – площадь пика внутреннего стандарта (пропанола) на хроматограмме испытуемого раствора;
 S_{on} – площадь пиков внутреннего стандарта (пропанола), на хроматограмме раствора сравнения;
 S_0 – площадь пика этанола на хроматограмме раствора сравнения;
 m – масса навески стандартного образца в миллиграммах;
 V_0 – объем растворителя в растворе сравнения в миллилитрах;
 p – плотность этанола;
 P – содержание этанола в образце этанола в процентах;
 3 – разведение;
 f – фактор пересчета, равный

$$f = \frac{V_0 \cdot p \cdot 3 \cdot P}{100}$$

Содержание C_2H_5OH (этанола) в субстанции «Тимьяна ползучего 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 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 ± 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 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 оценки качества трех валидационных серий субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» согласно требованиям проект АНД РК установлено, что показатели качества трех валидационных серий полученного лекарственного средства полностью соответствуют требованиям проекта АНД РК.

4.10 Отклонение

В ходе валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», на трех последовательно идущих сериях, отклонений от лабораторного регламента не установлено.

4.11 Вывод

По результатам валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», на трех последовательно идущих сериях, документально подтверждена высокая стабильность технологического процесса и выбранных технологических параметров, которые обеспечивают получение субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» соответствующего качества.

Оформлен протокол валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» (Приложение А).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований можно сделать следующие **выводы**:

1. Впервые составлен план валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучий экстракт сухой», который включает 11 основных этапов.

2. Впервые проведена валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», на трех последовательно идущих сериях, в результате которой документально подтверждена высокая стабильность технологического процесса и выбранных технологических параметров получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» соответствующего качества.

3. При оценке рисков установлены критичные технологические стадии получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»: это подготовка сырья, экстрагента и получение сухого экстракта, так как меньшее содержание суммы флавоноидов в растительном сырье может привести к меньшему содержанию суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и изменению биологического действия.

4. Оформлен протокол валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой».

Оценка полноты решения поставленных задач. Поставленные задачи по составлению плана валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучий экстракт сухой»; осуществлению валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» согласно валидационного плана; оформлению протокола валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», выполнены полностью.

Разработка рекомендаций и исходных данных по конкретному использованию результатов. Результаты, полученные в ходе проведенных исследований, имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Впервые составлен план валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучий экстракт сухой», который включает 11 основных этапов. Проведена валидация технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой», на трех последовательно идущих сериях, в результате которой подтверждена высокая стабильность технологического процесса и выбранных технологических параметров получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» соответствующего качества. При оценке рисков установлены критичные технологические стадии получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой»: это подготовка сырья, экстрагента и получение сухого экстракта, так как меньшее содержание суммы флавоноидов в растительном сырье может привести к меньшему содержанию суммы флавоноидов в субстанции «Тимьяна ползучего экстракт

сухой» и изменению биологического действия. Оформлен протокол валидации технологического процесса получения субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой». Результаты данной дипломной работы могут быть использованы в технологии фармацевтического производства и фармации.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eurasian patent No. 036266 for an invention dated 20.10.2020. A method of obtaining an ultrasonic extract from creeping thyme (*Thymus serpyllum* L.), which has an antibacterial effect against *Helicobacter pylori*. Orazbaeva P.Z., Shakarimova K.K., Ivasenko S.A., Akhmetova S.B., Loseva I.V.
2. Patent RK No. 34245 for an invention dated 26.03.2020. A method of obtaining an ultrasonic extract from creeping thyme (*Thymus serpyllum* L.), which has an antibacterial effect against *Helicobacter pylori*. Orazbaeva P.Z., Shakarimova K.K., Ivasenko S.A., Akhmetova S.B., Loseva I.V.
3. Ivasenko S., Orazbayeva P., Skalicka–Wozniak K., Ludwiczuk A., Marchenko A., Ishmuratova M., Poleszak E., Korona-Glowniak I., Akhmetova S., Karilkhan I., Loseva I. Antimicrobial activity of ultrasonic extracts of two chemotypes of *Thymus serpyllum* L. of Central Kazakhstan and their polyphenolic profiles // Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. – 2021. – №9(A). – P.61-67.
4. Сыбанкулова М.А., Жетерова С.К., Байзолданов Т.Б. Планирование и проведение валидации на фармацевтическом предприятии // ҚазҰМУ Хабаршысы - 2010. - С. 210-213.
5. СТ РК 1613-2006 «Надлежащая лабораторная практика. Основные положения» (GLP).
6. СТ РК 1614-2006 «Надлежащая дистрибьюторская практика. Основные положения» (GDP).
7. СТ РК 1615-2006 «Надлежащая аптечная практика. Основные положения» (GPP).
8. СТ РК 1616-2006 «Надлежащая клиническая практика. Основные положения»(GCP).
9. СТ РК 1617-2006 «Производство лекарственных средств. Надлежащая производственная практика. Основные положения» (GMP).
10. ГФ РК Т. 1. – Алматы: 2008.
11. ГФ РК Т. 2. – Алматы: 2009.
12. ISO 9000-2000 Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь.
13. Руководство ВОЗ. Надлежащая производственная практика для фармацевтических продуктов. Часть 2. Руководство по валидации производственных процессов.
14. МУ 64-04-001-2002. Производство лекарственных средств. Валидация. Основные положения.
15. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S/ под редакцией Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой – К.: МОРИОН, 2001. – 332-335 с.

16. Унификация основных валидационных документов. План валидации // Фармация. – 2009. - №4. – С. 21-24
17. Gloystein L. Protocol structure and IQ/OQ costs // J. validation technology. – 1997. – V.3, №2. – P. 140.
18. Производство лекарственных средств по GMP. Лекции. Часть 1. П.Г Мизина – С., 2004. – 9 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
Протокол валидации