«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА
УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ

НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ С.Д. АСФЕНДИЯРОВА»

Отдел магистратуры и PhD докторантуры

Оразбай Қайсар Қайратұлы

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ЗАГОТОВКИ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ «*FERULA TRANSILIENSIS*»

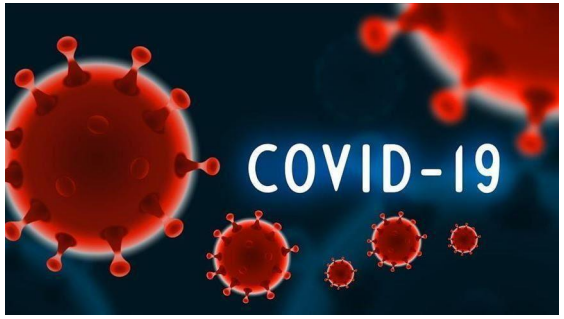
7M07201 – Технология фармацевтического производства

Научный руководитель:
Профессор, Сакипова З.Б.
Научный консультант:
к. фарм.н, доцент, Ибрагимова Л.Н.

Алматы 2021

Актуальность темы

Разработка новых лекарственных средств.



Пандемия,
Новые реалии
обеспечение
население ЛП

Новые
возможности,
Рынок сбыта

Государственная поддержка

Цель исследования

- Разработка оптимальной технологии сбора, заготовки и стандартизация лекарственного растительного сырья ферулы заилийской

Задачи исследования

- разработать технологию сбора и обработки лекарственного растительного сырья ферулы заилийской в соответствии с требованиями GACP;
- определить критерии качества и стандартизировать лекарственное растительное сырье;
- исследовать стабильность лекарственного растительного сырья.

Основные положения выносимые на защиту

- Технология сбора, обработки и хранения лекарственного растительного сырья ферулы заилийской.

- Стандартизация и исследование стабильности лекарственного растительного сырья ферулы заилийской.

Научная новизна

Впервые:

разработана оптимальная технология сбора, обработки и хранения лекарственного растительного сырья ферулы заилийской, фармакопейного качества в соответствии с требованиями GACP для дальнейшего применения в фармации в качестве фитосубстанции;

проведена стандартизация лекарственного растительного сырья ферулы заилийской;

исследована стабильность лекарственного растительного сырья ферулы заилийской, с установлением срока хранения.

Практическая значимость исследования

Расширение арсенала растительного сырья фармакопейного качества для потенциального выпуска высокоэффективных и доступных для казахстанского потребителя лекарственных средств.

Растения рода Ферула на территории Казахстана

*Род Ferula L. включает в себя около **200 вида** по всему миру, из которых **51** растут на территории Республики Казахстан*

15 видов применяются в народной медицине *(F. assa-foetida, F. caspica, F. diversivittata, F. furulaeoides, F. iliensis, F. karelinii, F. pallid, F. penninervis, F. sumbul, F. songorica, F. schair, F. teterrima,* ***F. transiliensis****, F. tschimganica, F. tenuisecta*)

Из них 15 видов эндемики Казахстана

Ферула имеет фармакологическую активность при таких заболевании как:

- истерии;
- туберкулёзе лёгких;
- сахарном диабете;
- болезнях печени;
- сифилисе;
- дерматозах как ранозаживляющее, наружно.

10 видов ферул занесены в Красную книгу Казахстана

Ферула заилийская
***Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov**
вид многолетних растений
рода Ферула, семейства Зонтичные (Apiaceae).

Местообитание. Растет на каменистых и травянистых горных склонах Тянь-Шаня, Памиро-Алая.

В Казахстане встречается в Тарбагатае, Джунгарском, Заилийском и Кунгей Алатау, в Западном Тянь-Шане

*-страны где произрастает ферула заилийская

Основным объектом исследования является корень

Подземная часть ферулы заилийской (*Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov) собранные с ранней весны и до осени 2020 года на горных склонах Заилийского Алатау

Сбор и заготовку лекарственного растительного сырья осуществляли в соответствии с принципами Надлежащей практики культивирования (GACP) и сбора лекарственных растений проводили в 2020 года до вегетационного периода, во время вегетации и по окончании вегетационного периода. Растение идентифицировано в РГП «Институт ботаники и фитониринга»..

Заготовку корней проводили следующим образом: корни выкапывали в период с 7.00 до 10.00 часов утра лопатами, стряхивали землю и промывали. Очистку и дальнейшую обработку сырья осуществляли в ТОО «ФитОлеум», корни промывали проточной водой, при необходимости фрагментировали и сушили в тени на специальных закрытых поддонах, без воздействия прямых солнечных лучей при температуре не выше 25 °
Собранное сырье контролировали на содержание таких примесей как твердые частицы почвы, пыль, насекомые и др. Сырье упаковывали в пергаментные пакеты по 100 г, наклеивая этикетку с указанием наименования сырья, места заготовки, времени сбора и массы нетто

КАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІ
Қазақстан Республикасы Білім және ғылым Министрлігі ғылым Комитетінің шаруашылық жүргізу құқығындағы Республикалық мемлекеттік кәсіпорнының «Ботаника және фитонцидтер институты»

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
КОМИТЕТ НАУКИ
Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Институт ботаники и фитонцидов» КН Министерства образования и науки Республики Казахстан

050040, Алматы г., Тимирязев к., 36 «Б»,
тел. 8(727) 394-80-40, факс 8(727) 394-80-40

050040, г. Алматы, ул. Тимирязева 36 «Б»,
тел. 8(727) 394-80-40, факс 8(727) 394-80-40

№ 01-08/472

«01» июля 2020 г.

Проректору по науке
АО «Национальный медицинский университет»
Жусупову Б.С.

Уважаемый Бауржан Сабитович!

В ответ на Ваше письмо об оказании содействия в идентификации дикорастущего вида растения рода: *Ferula* для научных исследований в области фармакогностического анализа вышеуказанного образца сообщаем, что в результате идентификации выявлено, что предоставленные образцы соответствует виду: *Ferula transiliensis*

Генеральный директор, д.б.н. Ситпаева Г.Т.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СБОРА, ОБРАБОТКИ И ХРАНЕНИЯ ПОДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ФЕРУЛЫ ЗАИЛИЙСКОЙ

Разработка технологии сбора, обработки и хранения подземной части ферулы заилийской.

Наибольшее накопление эфирных масел наблюдается до бутанизации растения

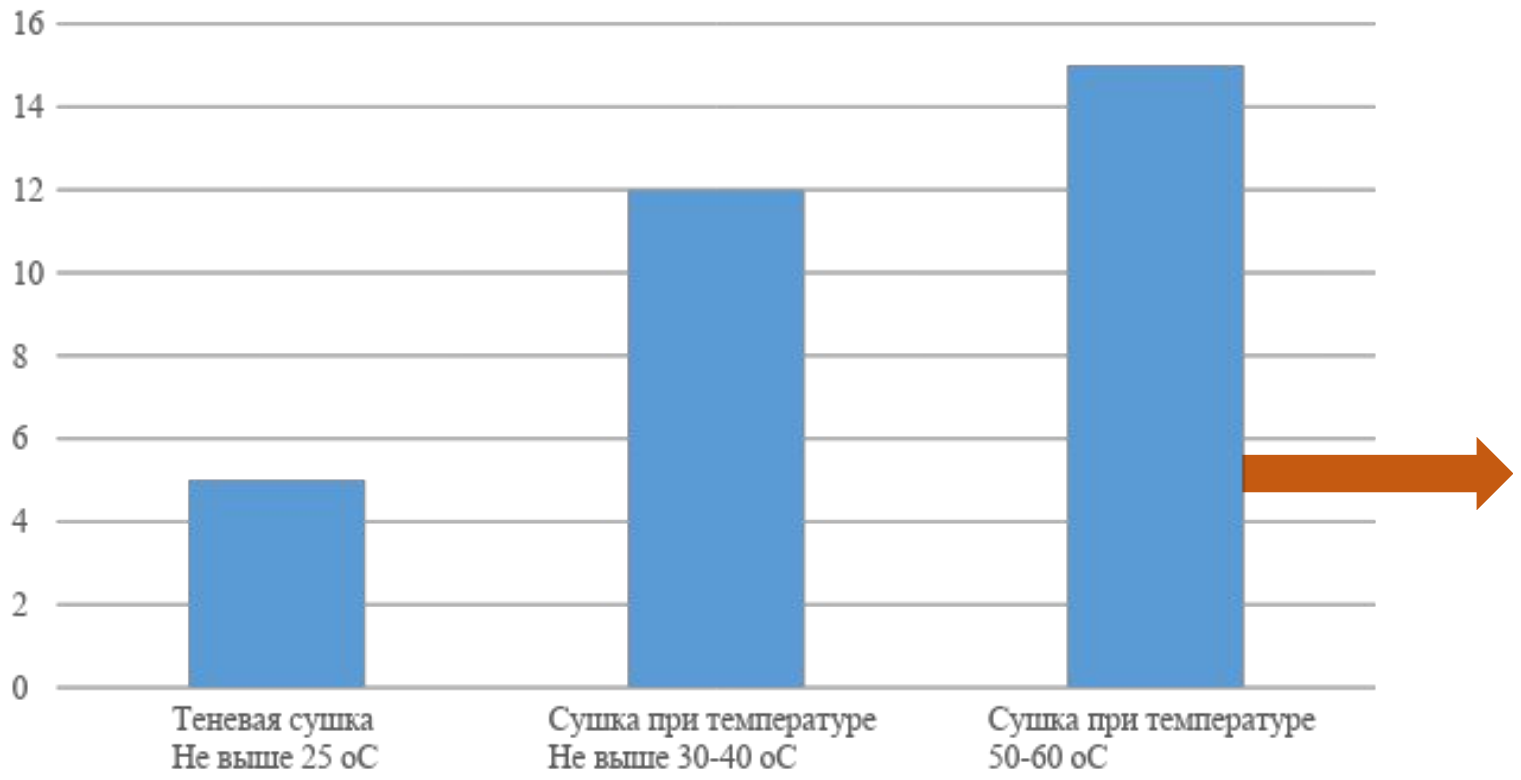
Рисунок 1 – Содержание эфирных масел в зависимости от времени сбора

Разработка технологии сбора, обработки и хранения подземной части ферулы заилийской

Таблица 1 – Экспериментальные модели технологии заготовки ЛРС

Модель / Стадии	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Сбор сырья	до начала цветения					
Сушка сырья	Теневая сушка Не выше 25 ºС		Сушка при температуре Не выше 30-40 ºС		Сушка при температуре 50-60 ºС	
Упаковка и маркировка	Бумажный пакет	Вакуумная упаковка	Бумажный пакет	Вакуумная упаковка	Бумажный пакет	Вакуумная упаковка

Разработка технологии сбора, обработки и хранения подземной части ферулы заилийской



Оптимальный режим сушки

Рисунок 2 – потеря количество эфирных масел в процентах

Технология сбора, обработки и хранения подземной части ферулы заилийской

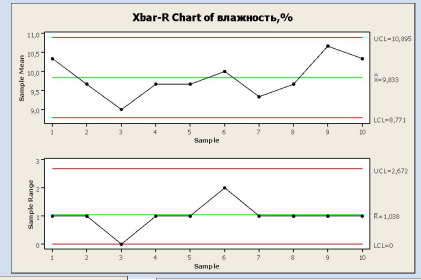
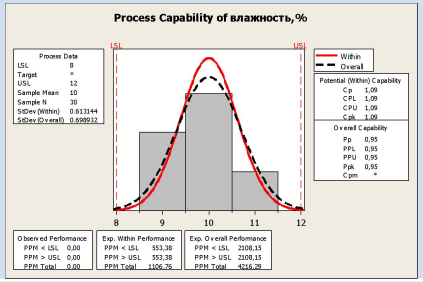
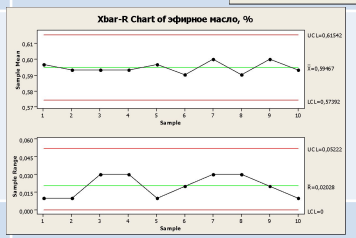
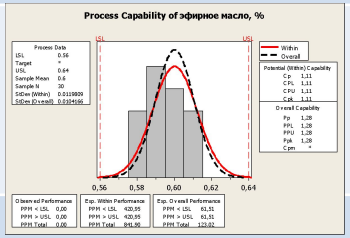
Технологическая схема сбора, сушки и хранения корней *Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov.

Валидация процесса сбора и обработки подземной части ферулы заилийской

Таблица 2 – План валидации технологического процесса заготовки ЛРС

Стадии процесса	Параметры	Регламентируемые нормы	Количество отбора проб в одной серии
Стадия 1 Сбор и очистка сырья	Качество собранного сырья	В соответствии с макропризнаков (видовых)	1
	Качество очистки корней	± 0.05 гк	Контроль каждой позиции
Стадия 2 **Фрагментация и сушка сырья**	Дисперсность фрагментированного сырья	5 см × 6 см × 1 см	10
	Температура сушки	До 25℃	10
	Остаточная влажность сырья	Не более 15 %	10
	Содержание эфирного масла	Не менее 2 %	10
Стадия 3 **Упаковка, маркировка**	Масса упакованного материала	100 г ±5%	10
	Маркировка	в соответствии с проектом АНД	1

Валидация процесса сбора и обработки подземной части ферулы заилийской

Стадия 1 Сбор сырья	Период сбора	Соответствует
	Высота среза	
	Качество сырья	
Стадия 2 Сушка сырья	Температура сушки	До 25℃
	Потеря в массе при высушивании	 
	Количественное определение суммы эфирных масел	 
Стадия 3 Упаковка и маркировка	Однородность масс упаковок	
	Качество упаковки и маркировки	Соответствует

Технология сбора, обработки и хранения подземной части ферулы заилийской

ОТЧЕТ ВАЛИДАЦИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

КОРЕНЬ ФЕРУЛЫ ЗАИЛИЙСКОЙ

ВАЛ-ОТ-ТП-ЭНБАЖ – 70 | Версия 01 | Страница 1 из 34

Для служебного пользования. Экз. № 1

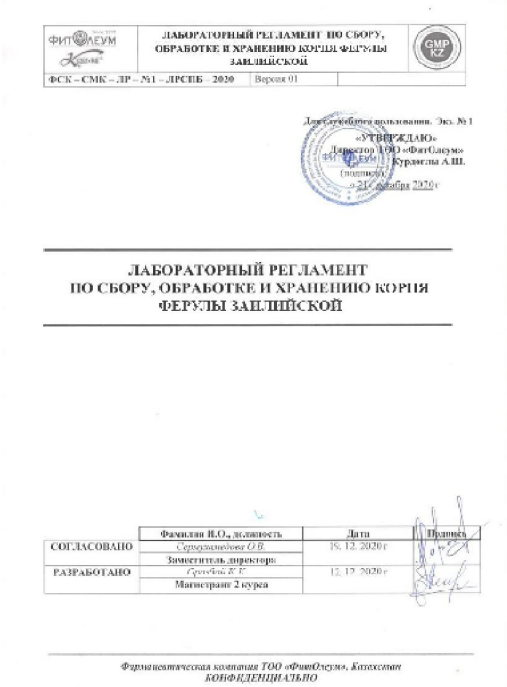
«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ТОО «ФитоОлеум»
Курманбаев А.Ш.
(подпись)
«24» мая 2020 г.

ОТЧЕТ ВАЛИДАЦИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА СБОРА, ОБРАБОТКИ И ХРАНЕНИЯ КОРНИ ФЕРУЛЫ ЗАИЛИЙСКОЙ

	Фамилия И.О., должность	Дата	Подпись
СОГЛАСОВАНО	Сатыгалиева О.Н.	22.05.2020г	
	Заместитель директора		
РАЗРАБОТАНО	Сеитова К.К.	20.05.2020г	
	Магистрант 2 курса		

Введение в действие «27» мая 2020 г.
Дата пересмотра «27» мая 2021 г.

Фармацевтическая компания ТОО «ФитоОлеум», Казахстан
КОНФИДЕНЦИАЛЬНО



ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ ПО СБОРУ, ОБРАБОТКЕ И ХРАНЕНИЮ КОРНЯ ФЕРУЛЫ ЗАИЛИЙСКОЙ

ФСК – СМК – ЛР – №1 – ЛРСПБ – 2020 | Версия 01

Для служебного пользования. Экз. № 1

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ТОО «ФитоОлеум»
Курманбаев А.Ш.
(подпись)
«21» декабря 2020 г.

ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ ПО СБОРУ, ОБРАБОТКЕ И ХРАНЕНИЮ КОРНЯ ФЕРУЛЫ ЗАИЛИЙСКОЙ

	Фамилия И.О., должность	Дата	Подпись
СОГЛАСОВАНО	Сатыгалиева О.Н.	16.12.2020г	
	Заместитель директора		
РАЗРАБОТАНО	Сеитова К.К.	12.12.2020г	
	Магистрант 2 курса		

Фармацевтическая компания ТОО «ФитоОлеум», Казахстан
КОНФИДЕНЦИАЛЬНО

Отчеты валидации технологического процесса сбора, обработки и хранения

Лабораторные регламенты по сбору, обработке и хранению

Изучение технологических параметров лекарственного растительного сырья *Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov.

Технологические параметры ЛРС

Технологический параметр	Ferula transiliensis (Herder) Pimenov
Удельная масса ($d_у$), г/см^3	4,26±0,02
Насыпная масса (d_0), г/см^3	0,23±0,02
Объемная масса ($d_н$),г/см^3	0,25±0,02
Пористость (Пс)	0,94±0,02
Порозность (Пж)	0,85±0,02
Свободный объем слоя сырья (V)	0,95±0,02

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ФЕРУЛЫ ЗАИЛИЙСКОЙ

Стандартизация ЛРС.

Таблица 4 – Спецификация качества на корень ферулы заилийской

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
1	2	3
Определение	Собранные в период бутонизации и цветения, высушенные, цельные или фрагментированные корни *Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov	ГФ РК I, т. 1 общей статье "*Корни, корневища,*
Идентификация: А. Макроскопия	Корни с разветвленным стеблекорнем, измельченные на куски, корни со стеблекорнем длиной 7-12 см. Толщина корней от 5 до 14 см, стеблекорни от 1,5 до 3,5 см толщиной, 2-4 см длиной. На верхушке разветвлений стеблекорня имеется пучок желтовато-серых волокон, представляющих собой остатки отмерших листьев. Цвет корня и стеблекорня снаружи серовато-коричневый, в изломе – желтовато - или серовато-белый; характер излома сильно волокнистый	ГФ РК I, т. 1
В. Микроскопия	На поперечном срезе корня видна толстая слоистая пробка, в которой чередуются почти бесцветные и темноокрашенные слои. Флоэма и ксилема образуют вееровидные участки в периферической части корня и соединяются извилистыми анастомозами в центре. Во флоэме и паренхиме корня имеются многочисленные секреторные каналы. В клетках паренхимы, окружающих секреторные каналы, содержатся маслянистые включения и крахмал, в сердцевинных лучах - маслянистые включения, в прилегающих к ним клетках паренхимы - крахмал. Крахмальные зерна в основном простые, округлой, овальной или удлиненно-эллиптической формы	ГФ РК, т. 1, 2.2.27
С. Качественные реакции: -Сложные эфиры -Сапонины	На хроматограмме наблюдается два основных пятна с Rf 0,5 (ферутинин), 0,4 (тенуферидин) На хроматограмме зоны адсорбции веществ тритерпеновой природы и СО должны иметь окраску розово-вишневого цвета, переходящую в голубую.	ГФ РК I, т. 1, *2.8.12*

Продолжение таблицы 4

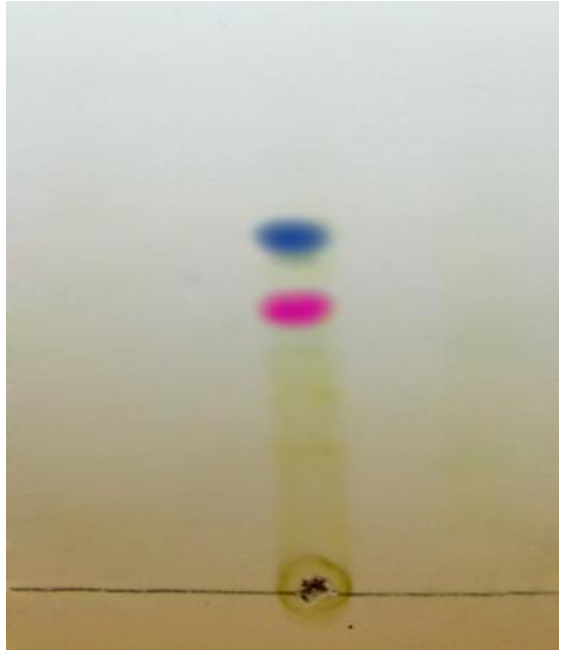
1	2	3
Посторонние примеси:	*Цельное сырье.* Корней, почерневших с остатками стеблей, не более 1 %; - кусков корней менее 2 см не более 5 %; - органической примеси не более 0.5 %; - минеральной примеси не более 1 %.	ГФ РК I, т.1, *2.8.2*
Потеря в массе при высушивании	Не более 15 %	ГФ РК I, т. 1, *2.2.32*
Общая зола	Не более 10 %	ГФ РК I, т. 1, *2.4.16*
Зола, нерастворимая в 10 % кислоте хлороводородной	Не более 1 %	ГФ РК I, т. 1, *2.8.1*
Микробиологическая чистота	Лекарственное растительное сырье должно соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, *5.1.4 категория 4 В* - Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов*:* не более 10^5 бактерий и не более 10^4 грибов в грамме; - Не более 10^3 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий в грамме; - Отсутствие *Escherichia coli* в 1 г; - Отсутствие *Salmonella* в 10 г.	ГФ РК I, т. 1, *2.6.12* и ГФ РК I, т. 2., *2.6.13*
Количественное Определение	Не менее 2 % суммы эфирных масел	Определение эфирных масел в лекарственном растительном сырье, ГФ РК т.1, 2.8.12
Радионуклиды	Должно соответствовать требованиям «Гигиенические нормативы «Санитарно - эпидемиологические требования к обеспечению радиационной безопасности»»	В соответствии с Приказом МНЭ РК от 27.02.2015г. №155
Упаковка	Сырье по 50 г упаковывают в вакуумную упаковку	В соответствии с проектом АНД РК
Маркировка	См. проект макета упаковки	В соответствии с проектом АНД РК
Транспортировка	В соответствии с ГОСТ 17768-90Е.	ГОСТ 17768-90Е
Хранение	В защищенном от влаги и света месте при температуре не выше 25°С.	В соответствии с проектом АНД РК
Срок хранения	Не менее 12 месяцев	В соответствии с проектом АНД РК

Качественное определение эфиров

Получение экстракта для анализа: Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 2,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в фильтровальную бумагу, опускали в экстрактор аппарата Сокслета, рабочий объем которого около 200 мл, заливали 180 мл 95% спирта и экстрагировали в течение 2,5 ч (6 сливов) на кипящей водяной бане. Спиртовое извлечение концентрировали на роторном испарителе до объема 15 мл, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора тем же спиртом до метки и тщательно перемешивали.

Методика качественного определения сложных эфиров в корнях ферулы заилийской:1 мл спиртового экстракта, полученного вышеуказанным методом, помещали в пробирку, приливали 0,1 мл раствора ванилина в серной кислоте, в результате наблюдалось сине-зеленое окрашивание, характерное для сесквитерпенов.

Методом анализа в тонком слое с использованием пластинки «Силуфол УФ-254» размером 15×15 см в системе хлороформ – этанол (96%) (9,5 : 0,5) установили, что основным компонентом суммы сложных эфиров является ферутинин. Для проведения анализа микропипеткой наносили 0,01 мл извлечения, полученного согласно вышеуказанному методу. В качестве свидетеля наносили 0,01 мл раствора рабочего стандартного образца ферулена в 96% этаноле (50 мкг). Пластинку высушивали на воздухе до удаления запаха растворителей; затем помещали в камеру со смесью растворителей: хлороформ – этанол (96%) (9,5 : 0,5) и хроматографировали восходящим способом (без насыщения). Когда фронт растворителей прошел около 12 см, пластинку вынимали из камеры, подсушивали на воздухе до исчезновения запаха растворителей и просматривали в УФ-свете. На хроматограмме наблюдались пять пятен, из них два основных: с Rf около 0,5 (ферутинин) и Rf около 0,4 (тенуферидин) на уровне пятен свидетеля, которые при опрыскивании раствором ванилина в серной кислоте дают характерное окрашивание: зеленое, переходящее в синее (ферутинин) и розовато-фиолетовое (тенуферидин).



ИССЛЕДОВАНИЯ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ FERULA TRANSILIENSIS (HERDER) PIMENOV

Программа исследования стабильности ЛРС корня ферулы заилийской

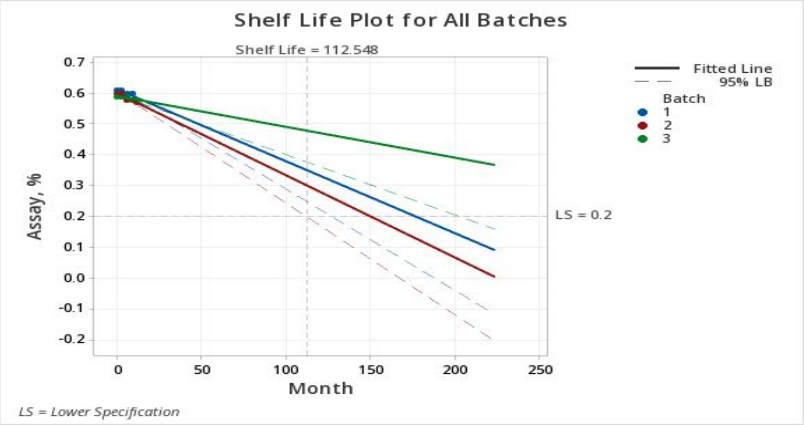
Наименование ЛРС	Серия	Время сбора	Вид упаковки	Периодичность исследования, мес.
Корень ферулы заилийской *(Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov*)*	01РВ	Апрель 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	02РВ	Апрель 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	03РВ	Апрель 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	01ПЦ	Июнь 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	02ПЦ	Июнь 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	03ПЦ	Июнь 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	01ПО	Октябрь 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	02ПО	Октябрь 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24
	03ПО	Октябрь 2020	Вакумная упаковка	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24

Изучение стабильности и установление сроков хранения корня ферулы заилийской

Показатели	Нормы
Описание	В соответствии со спецификацией качества
Идентификация:	А. В соответствии со спецификацией качества Б. В соответствии со спецификацией качества С. В соответствии со спецификацией качества
Посторонние примеси: **– почерневших и побуревших частей сырья,** **– других посторонних примесей**	не более 1 %; не более 2%
Потеря в массе при высушивании	Не более 15,0 %
Микробиологическая чистота	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13
Количественное определение суммы эфирных масел	Не менее 2 %

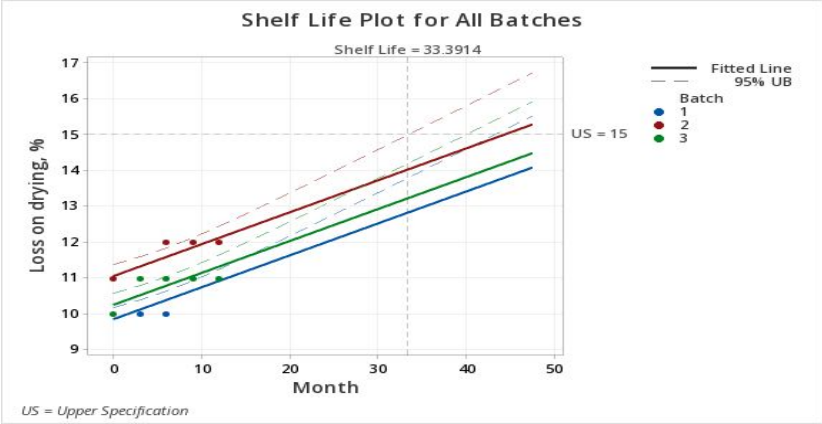
Изучение стабильности и установление сроков хранения корни *Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov

- *Условиях испытаний: 25 ± 2°C и 60 ± 5% RH*



Количественное определение

≈ 24 месяца



≈ 24 месяца

Потеря в массе при высушивании

Регрессионные графики установления срока хранения лекарственного растительного сырья ферулы заилийской

Заключение

- Растения *Ferula transiliensis* (Herder) Pimenov имеют большой потенциал как источников биологически активных веществ для разработки лекарственных средств для лечения болезней туберкулёза, воспалительных заболеваний и т.д.
- Разработан технология заготовки и определён оптимальный период сбора растительного сырья. Способ заготовки апробирована на предприятии ТОО «ФитОлеум», на ее основе разработан лабораторный регламент
- Разработана оптимальная технология сбора, обработки и хранения корня ферулы заилийской в соответствии с руководящими принципами стандарта GACP.
- Проведена стандартизация ЛРС корня ферулы заилийской, в ходе которой разработаны спецификации качества на соответствующие объект.
- Проведены исследования стабильности и установления срока хранения ЛРС ферулы заилийской в условиях долгосрочных испытаний 25 ± 2°C и 50 ± 5% RH и установлен срок хранения 12 месяцов. При помощи регрессионного анализа данных было определено, что вакуумная упаковка являются приемлемым для хранения ЛРС ферулы заилийской, а также был установлен предварительный срок хранения (24 месяца).

Спасибо за внимание