

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и энергетики

(наименование института полностью)

Кафедра «Химическая технология и ресурсосбережение»

(наименование)

18.04.01 Химическая технология

(Код и наименование направления подготовки)

Химия и технология продуктов основного органического и нефтехимического синтеза

(направленность (профиль))

## ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА (МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ)

на тему Оптимизация технологии производства лекарственного препарата  
Кальция глюконат

Обучающийся

С.О. Алашеев

(Инициалы Фамилия)

(личная подпись)

Научный  
руководитель

канд. хим. наук, доцент, Ю.Н. Орлов

(ученая степень (при наличии), ученое звание (при наличии), Инициалы и Фамилия)

## Содержание

Введение.....	5
1 Литературный обзор .....	7
1.1 Общие сведения об инъекционных лекарственных формах .....	7
1.2 Создание условий к производству стерильной продукции .....	8
1.3 Лекарственный препарат «Кальция глюконат, раствор для внутреннего и внутривенного введения, 100 мг/мл».....	9
1.3.1 Кальция глюконат (сырье) .....	10
1.3.2 Янтарная кислота .....	11
1.3.3 Натрия гидроксид .....	11
1.3.4 Вода для инъекций.....	12
1.3.5 Краткое описание актуального технологического процесса производства лекарственного препарата «Кальция глюконат».....	12
1.3.6 Патентный поиск способов получения стабильных растворов лекарственного препарата «Кальция глюконат».....	14
1.4 Обзор научной литературы, посвященной изучению раствора кальция глюконата.....	19
2 Экспериментальная часть.....	22
2.1 Исследования актуального состава раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат» .....	22
2.1.1 Приготовление растворов кальция глюконата .....	22
2.1.2 Результаты проведенных экспериментов.....	27
2.2 Исследование кристаллов кальция глюконата с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.....	27

2.3	Подбор нового состава и параметров приготовления раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат» .....	31
2.3.1	Описание экспериментов .....	31
2.3.2	Порядок приготовления растворов из экспериментов № 7–20.....	34
2.3.3	Результаты проведенных экспериментов.....	36
2.4	Исследование момента кристаллообразования раствора кальция глюконата.....	38
2.4.1	Описание экспериментов .....	39
2.4.2	Методика проведения экспериментов .....	40
2.4.3	Порядок приготовления растворов из экспериментов № 21, 22.....	40
2.4.4	Определение количества частиц в жидкости.....	41
2.4.5	Результаты исследования.....	42
2.5	Производство раствора кальция глюконата по различным технологиям. Исследование стабильности полученных образцов .....	46
2.5.1	Описание проведенных экспериментов .....	46
2.5.2	Расчет необходимого сырья и упаковочных материалов (ампул)....	47
2.5.3	Методика проведения экспериментов .....	50
2.5.4	Карты опытов .....	51
2.5.5	Исследование стабильности образцов ампул .....	57
2.5.6	Результаты исследования стабильности.....	60
2.6	Производство валидационной серии кальция глюконата.....	63
2.6.1	Выбор сырья для производства валидационной серии.....	63
2.6.2	Выбор упаковочных материалов (ампул) для производства валидационной серии .....	64
2.6.3	Технологическая схема производства валидационной серии .....	64
2.6.4	Составление норм расхода сырья и упаковочных материалов .....	66

2.6.5 Составление материального баланса .....	73
2.6.6 Расчет сырья для производства валидационной серии.....	76
2.6.7 Производство валидационной серии .....	77
Заключение .....	89
Список используемой литературы .....	91
Приложение А .....	96
Приложение Б .....	99
Приложение В.....	104

## Введение

Кальций – неотъемлемый элемент минеральной структуры кости, он играет роль регулятора нервной системы и участвует в важных механизмах сокращения мышц. Недостаток значимого элемента приводит к следующим последствиям: деминерализация позвоночника, костей таза и конечностей, а также способствует развитию остеопороза. В связи с этим лечение болезней, которые связаны с недостатком кальция, рассматриваются как один из важных приоритетов в развитии сферы здравоохранения [16].

Лекарственные препараты, содержащие кальций, используются для лечения дефицита паращитовидных желез, аллергических заболеваний, гипокальциемии, остановки сердца и кардиотоксичности, вызванной гиперкалиемией или гипермагниемией, и для снижения проницаемости сосудов. Одним из способов лечения вышеперечисленных недугов является лекарственный препарат «Кальция глюконат».

«Кальция глюконат» выпускается в виде различных лекарственных форм: таблетки, порошки, стерильный раствор для инъекций и раствор для приема внутрь. Среди всех известных лекарственных форм наиболее эффективной является стерильный раствор кальция глюконата для внутривенного и внутримышечного введения с концентрацией 100 мг/мл.

Известно, что 10%-ный раствор кальция глюконата является пересыщенным раствором, так как истинная растворимость кальция глюконата в воде примерно 3,5 мг на 1 мл раствора. В связи с этим раствор кальция глюконата с концентрацией выше 3,5 мг/мл является метастабильным, то есть при внесении затравки или при механических воздействиях возможно самопроизвольное образование осадка пересыщенного компонента в растворе [24]. Пересыщенность раствора кальция глюконата приводит к тому, что при понижении температуры [24] или перемешивании происходит помутнение раствора и выпадение кальция глюконата в осадок. Это свойство кальция глюконата создает сложности при

приготовлении, хранении, производстве, транспортировке, анализе физико-химических параметров раствора лекарственного препарата. Все вышеперечисленные сложности приводят к излишним затратам и потерям лекарственной продукции [6], [8], [18].

На сегодняшний день не существует универсального способа стабилизации пересыщенных растворов. Среди возможных путей решения проблемы стабилизации таких растворов существуют методы добавления веществ, повышающих вязкость системы (введение других растворителей), таких как гликоли или коллоидные растворы полимеров. Такие решения не всегда приемлемы в фармацевтической практике, поэтому существуют и другие пути решения проблемы стабилизации таких растворов [24].

Несмотря на возможные проблемы при производстве, транспортировке и хранении, раствор лекарственного препарата «Кальция глюконат» включён в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств». В связи с этим производство стабильного раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат, раствор для внутривенного и внутримышечного введения, 100 мг/мл» является актуальным на данный момент.

Цель работы – оптимизация существующей технологии производства стерильного лекарственного препарата «Кальция глюконат, раствор для внутривенного и внутримышечного введения, 100 мг/мл».

Задачи работы:

–изучить факторы, влияющие на стабильность раствора кальция глюконата в процессе приготовления, розлива и хранения;

–подобрать состав и технологию производства, положительно влияющих на стабильность раствора кальция глюконата;

–изучить стабильность раствора кальция глюконата с обновленным составом при хранении методом ускоренного старения при 40 °С;

–воспроизвести промышленную валидационную серию обновленного раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат».

# 1 Литературный обзор

## 1.1 Общие сведения об инъекционных лекарственных формах

В настоящее время среди лекарственных препаратов особо важное место занимают инъекционные лекарственные формы. Такие препараты попадают в организм путем нарушения целостности кожного слоя или слизистой оболочки. По этой причине к качеству инъекционных лекарственных препаратов предъявляют повышенные требования. Такие препараты должны быть стерильными, стабильными в процессе изготовления и хранения, апирогенными, и в них должны отсутствовать механические включения.

На сегодняшний день среди всех готовых лекарственных средств, которые производятся фармацевтическими предприятиями на территории РФ и стран СНГ, парентеральные препараты составляют примерно 30% от объема всех производимых лекарственных средств. Так же известно, что инъекционные лекарственные препараты в различных фармакопейных статьях мира составляют от 10 % до 15 %.

Стерильные лекарственные формы (растворы) имеют ряд преимуществ по сравнению с другими лекарственными формами:

- высокая скорость наступления терапевтического эффекта (биодоступность);
- отсутствие отрицательного воздействия лекарственных веществ на органы вкуса и обоняния;
- отсутствие разрушительного действия ферментов желудочно-кишечного тракта и печени на лекарственное вещество;
- высокий уровень биологической доступности;
- возможность локализации действия лекарственного вещества;
- высокая точность дозирования;

- возможность введения лекарства больному, находящемуся в бессознательном состоянии, или, когда лекарство нельзя вводить перорально;
- частичное замещение крови после значительных ее потерь;
- стабильность при хранении;
- возможность заготовки лекарства для инъекций в необходимом количестве на длительный срок хранения.

## **1.2 Создание условий к производству стерильной продукции**

Для производства стерильной продукции и возможности ее реализации на территории Российской Федерации и за рубежом необходимо обеспечивать качество выпускаемой продукции за счет соблюдения принципов, требований и правил надлежащей производственной практики (GMP – Good Manufacturing Practice) [11] и выполнять требования другой нормативной документации [22], [31].

Надлежащая производственная практика (GMP) представляет собой сборник различных руководящих принципов, руководящих документов, директив, изданных и разработанных международными организациями и учреждениями в сотрудничестве с фармацевтической промышленностью и несколькими национальными регулирующими органами в разных регионах и странах, чтобы гарантировать высочайшие стандарты эффективности, качества и безопасности в любом процессе, который включает производство продуктов для здоровья [35].

Для достижения всех показателей качества стерильных лекарственных средств должны выполняться особые требования, предъявляемые к ведению технологического процесса, состоянию производственных помещений, работе технологического оборудования, производственному персоналу и санитарии, инженерным системам и чистоте воздуха, процедурам подготовки основных и вспомогательных сырья и материалов. Выполнение данных



условий минимизирует риск контаминации микроорганизмами, частицами и пирогенными веществами [11].

В зависимости от способа достижения стерильности при производстве лекарственной продукции различают две технологии:

–производство, предусматривающее финишную стерилизацию продукции в первичной упаковке (термическая, химическая и радиационная стерилизация);

–производство, осуществляемое в асептических условиях на одной или нескольких стадиях.

Хотя все стерильные продукты несут определенную степень риска, существует относительная разница в риске между финишной стерилизацией и асептическим процессом. Из этих двух видов производства наиболее надежным способом достижения стерильности продукции считают финишную стерилизацию, которая может быть количественно оценена с помощью уровня гарантии стерильности [36]. Асептическое производство, наоборот, считается наиболее критическим. Это связано с необходимостью обеспечения производственных условий (окружающего воздуха, материалов, оборудования и персонала) надлежащим качеством, чтобы микробиологическое загрязнение и загрязнение частицами не превышало установленных нормируемых значений.

### **1.3 Лекарственный препарат «Кальция глюконат, раствор для внутреннего и внутривенного введения, 100 мг/мл»**

Глюконат кальция является лекарственным средством, используемым для лечения гипокальциемии, остановки сердца и кардиотоксичности, вызванной гиперкалиемией или гипермагниемией. Он классифицируется как кальциевая соль [33].

Один из актуальных составов раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат» приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Актуальный состав лекарственного препарата «Кальция глюконат» на 1 мл раствора

Наименование вещества	Содержание вещества в 1 мл раствора, мг	Функциональное назначение
Кальция глюконат	100	Действующее вещество
Янтарная кислота	5	Стабилизатор
Натрия гидроксид	до pH 6,0-7,5	Щелочной агент
Вода для инъекций	до 1 мл	Растворитель

### 1.3.1 Кальция глюконат (сырье)

Кальция глюконат (англ. calcium gluconate, лат. calcii gluconas) — кальциевая соль глюконовой кислоты, входящая в состав лекарственных препаратов и используемая при дефиците кальция в организме [14]. Структурная формула молекулы кальция глюконата приведена на рисунке 1.

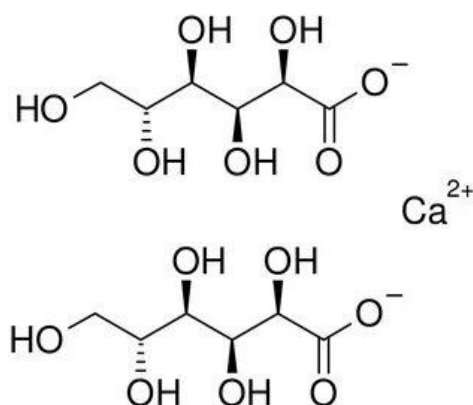


Рисунок 1 – Структурная формула молекулы кальция глюконата

Брутто-формула кальция глюконата —  $C_{12}H_{22}CaO_{14}$ . Систематическое наименование — кальция (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексаноат. Белый зернистый или кристаллический порошок без запаха и вкуса. Кальция глюконат медленно растворяется в холодной воде и легко растворим в кипящей воде. Практически нерастворим в этаноле и эфире. Молекулярная масса 430,373 г/моль. ПДК в воздухе рабочей зоны 10 мг/м<sup>3</sup>, класс опасности 4, не токсичен [14].

### 1.3.2 Янтарная кислота

Янтарная кислота представляет собой бесцветные кристаллы, растворимые в воде и спирте. Температура плавления 183 °С. Выше 235 °С отщепляет H<sub>2</sub>O и переходит в янтарный ангидрид. Янтарная кислота легко возгоняется при температуре от 130 °С до 140 °С. Растворимость в воде: 6,8 г в 100 г воды [20]. Функциональное назначение в составе лекарственного препарата – стабилизатор [2]. Структурная формула молекулы янтарной кислоты изображена на рисунке 2.

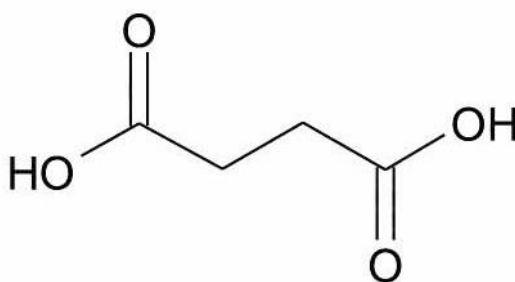


Рисунок 2 – Структурная формула молекулы янтарной кислоты

### 1.3.3 Натрия гидроксид

Натрия гидроксид представляет собой белое сильно гигроскопичное твердое вещество, которое «расплывается» на открытом воздухе. Хорошо растворяется в воде с выделением большого количества тепла. В составе раствора лекарственного препарата используется в виде 1М раствора натрия гидроксида. Раствор натрия гидроксида представляет собой прозрачную бесцветную жидкость без запаха, легко смешивающуюся с водой. При низких концентрациях нетоксичен и не опасен (до концентрации 1М раствора), при высоких концентрациях (в твердом виде) оказывает сильное раздражающее действие на глаза и кожу [20]. Функциональное назначение в составе лекарственного препарата – регулятор pH (щелочной агент) [2]. Структурная формула молекулы натрия гидроксида изображена на рисунке 3.



Рисунок 3 – Структурная формула молекулы натрия гидроксида

#### **1.3.4 Вода для инъекций**

Вода является наиболее распространенным растворителем для парентеральных препаратов. Она представляет собой самый удобный с физиологической точки зрения растворитель, поскольку является в количественном отношении главной составной частью всех секретов организма и одновременно основным агентом, транспортирующим питательные вещества и продукты обмена веществ в организме [2], [20].

#### **1.3.5 Краткое описание актуального технологического процесса производства лекарственного препарата «Кальция глюконат»**

Стадия «Приготовление и фильтрации раствора» (стадия 1).

В реактор загружают воду для инъекций с температурой 80–85 °С. В дальнейшем процессе загрузки сырья в реактор поддерживают температуру раствора в пределах от 80 °С до 85 °С.

Устанавливают скорость донной магнитной мешалки в реакторе 300 об/мин. Через загрузочный люк реактора загружают янтарную кислоту (из расчета 5 мг/мл готового раствора). Далее производят перемешивание раствора в течение 15 минут до полного растворения янтарной кислоты.

Устанавливают скорость донной магнитной мешалки в реакторе 300 об/мин. Через загрузочный люк реактора загружают кальция глюконат (из расчета 100 мг/мл готового раствора). Далее производят перемешивание раствора в течение 50 минут до полного растворения кальция глюконата.

После полного растворения кальция глюконата и янтарной кислоты производится охлаждение раствора в реакторе с помощью охлажденной

воды, подаваемой через рубашку, до 30–35 °С при постоянном перемешивании магнитной мешалкой со скоростью 300 об/мин.

Далее измеряют рН раствора. При несоответствии значения рН диапазону от 6,0 до 7,5 производят корректировку раствора 1М раствором натрия гидроксида. После достижения необходимого показателя рН объем раствора кальция глюконата доводят до целевого значения водой для инъекций и производят перемешивание полученного раствора в течение 10 минут со скоростью донной магнитной мешалки в реакторе 300 об/мин.

По окончании перемешивания в реакторе создают давление стерильным воздухом 0,3 бар и отбирают репрезентативные пробы раствора для проведения физико-химического анализа полученного раствора в контрольной лаборатории.

Стадия «Наполнение, запайка и стерилизация ампул» (стадия 2).

После получения результатов анализов из контрольной лаборатории с результатами, соответствующими регламентирующей документации, готовый раствор кальция глюконата подают на машину наполнения и запайки ампул под давлением стерильного воздуха от 0,1 до 1,0 бар через систему предварительной и стерилизующей фильтрации.

Розлив готового раствора кальция глюконата производят в ампулы из нейтрального прозрачного стекла (объемом 5 или 10 мл), после чего ампулы запаивают. Процесс происходит в рабочей зоне класса чистоты «А» под ламинарным потоком воздуха со скоростью 0,36–0,54 м/с.

По окончании наполнения и запайки ампул полупродукт (ампулы, наполненные и запаянные) подвергают финишной стерилизации в паровом стерилизаторе при температурном режиме 121–124 °С в течение 8 минут.

На стадии 1 во время ожидания результатов анализа раствора с контрольной лаборатории, а также во время фильтрации раствор в реакторе может помутнеть и может образоваться осадок в виде кристаллов кальция глюконата на дне реактора. Также образовавшиеся кристаллы кальция могут

осесть на поверхности фильтра и забить его, дальнейшая фильтрация раствора лекарственного препарата может стать невозможной.

На стадии 2 во время процесса наполнения и запайки ампул раствор кальция глюконата может кристаллизоваться и скапливаться в подвижных или узких (труднопроходимых) частях оборудования и тем самым затруднять или полностью останавливать процесс наполнения и запайки ампул.

Так же во время проведения физико-химического анализа раствора «Кальция глюконата» (титрометрическим методом) может образоваться осадок в виде кристаллов кальция глюконата, что в свою очередь может привести к ложным (заниженным) результатам при определении количественного содержания активного вещества (самого кальция глюконата).

Раствор кальция глюконата становится стабильным только после стерилизации в герметично запаиваемой ампуле, осадок в виде кристаллов больше не выпадает и раствор остается прозрачным.

### **1.3.6 Патентный поиск способов получения стабильных растворов лекарственного препарата «Кальция глюконат»**

Был проведен поиск патентов, в которых описываются способы получения стабильных растворов лекарственного препарата «Кальция глюконат» [21], [25]-[28]. Наиболее близкий к существующему способу получения раствора кальция глюконата является патент авторов: Боровикова В. Э., Виноградова В. А. [28]. Однако, описанные там рекомендации по приготовлению стабильного раствора кальция глюконата и так используются в актуальном способе приготовления раствора и не оказывают однозначного положительного эффекта на стабильность раствора. Результаты патентного поиска приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Патентный поиск способов получения стабильных растворов лекарственного препарата «Кальция глюконат»

Название, номер и дата патента	Авторы патента	Краткое описание патента
1	2	3
<p>Способ получения глюконата кальция для инъекционных растворов (варианты) Заявка: 99102794/14, 1999.02.09</p>	<p>Карпун Е.В. Чумаков С.И. Ященко П.Г. Жариков Р.Д. Щербинина Е.В. Чернова М.В. Дедилов А.М. Исаева Е.Д.</p>	<p>«Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к способам получения глюконата кальция с повышенной растворимостью и пониженной бактериальной загрязненностью, пригодного для получения инъекционных растворов. Проводят очистку водных растворов глюконата кальция активированным углем, концентрирование упариванием и кристаллизацию при охлаждении. Отделяют кристаллы и промывают. При этом водный раствор глюконата кальция подвергают предварительному концентрированию до стадии очистки активированным углем повторно. Кристаллизацию ведут из растворов с концентрацией 250–350 г/л до снижения концентрации в растворе ниже 150 г/л. Выделившиеся кристаллы промывают охлажденным до 5-7°С раствором перекиси водорода. Либо водный раствор глюконата кальция подвергают предварительному концентрированию до стадии очистки активированным углем. Затем очищают активированным углем повторно. Кристаллизацию ведут из растворов с концентрацией 150–250 г/л введением перед кристаллизацией до 50% по объему водорастворимого органического растворителя. Выделившиеся кристаллы промывают охлажденным до 5-7°С раствором перекиси водорода. Изобретение позволяет получить некристаллизующиеся растворы, соответствующие международным стандартам.» [25]</p>

Продолжение таблицы 2

Название, номер и дата патента	Авторы патента	Краткое описание патента
1	2	3
Способ получения раствора глюконата кальция 10%-ного для инъекций Заявка: 2005117846/15, 2005.06.09	Юсупов В. Г., Алсынбаев М. М., Козырева М. Х., Загидуллин Н. В., Лебедева А. В., Хисамутдинов Р. А.	«Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно, к способу приготовления раствора глюконата кальция 10% для инъекций, включающему растворение субстанции, фильтрацию, розлив и стерилизацию, отличающемуся тем, что субстанцию предварительно смешивают при температуре 10-30°C с водным раствором перекиси водорода концентрацией от 0,00015 до 0,15%, выдерживают в течение 4-24 часов, смесь растворяют в воде при температуре от 70°C до 90°C, нагревают до температуры не более 100°C, выдерживают под давлением (0,05±0,02) МПа не менее 20 минут, раствор разливают в ампулы и стерилизуют текучим паром при температуре не более 100°C не более 1 часа. Способ по настоящему изобретению позволяет получить стабильный при хранении, не карамелизующийся и не кристаллизующийся раствор глюконата кальция 10% для инъекций.» [26]
Способ получения стабильного раствора кальция глюконата для инъекций Заявка: 2007110013/15, 2007.03.19	Вергейчик Е. Н., Рыкунова И. П., Губанова Л. Б.	«Технической задачей предлагаемого изобретения является повышение стабильности раствора кальция глюконата для инъекций. Поставленная задача решается путем растворения в воде очищенной смеси солей кальция глюконата и кальция лактата, взятых в определенных соотношениях. Субстанции кальция глюконата и кальция лактата, используемые для приготовления стабильного раствора кальция глюконата 10%.» [27]



Продолжение таблицы 2

Название, номер и дата патента	Авторы патента	Краткое описание патента
1	2	3
<p>РАСТВОР КАЛЬЦИЯ ГЛЮКОНАТА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ Заявка: 2007128891/15, 2007.07.27</p>	<p>Алмакаева Л. Г., Бегунова Н. В.</p>	<p>«1. Раствор кальция глюконата для инъекций, отличающийся тем, что дополнительно содержит аминокислоту или смесь аминокислот при следующем соотношении компонентов, %: кальция глюконат 8,0–12,0 аминокислота или смесь аминокислот 0,5–5,0 вода для инъекций. 2. Раствор по п.1, отличающийся тем, что аминокислоту выбирают из ряда изолейцин, треонин, аланин, глицин, пролин, таурин, цистеин, аргинин. 3. Раствор по п.1, отличающийся тем, что смесь аминокислот используют в различных комбинациях при соотношении 1,0:(0,3-1,0). 4. Способ получения раствора кальция глюконата для инъекций, включающий растворение субстанции, охлаждение, фильтрацию, розлив и стерилизацию, отличающийся тем, что растворение субстанции осуществляют в воде для инъекций, нагретой до температуры 90°С, с последующим нагреванием полученного раствора до температуры 98°С±2°С до полного растворения субстанции, после охлаждения до 80-90°С в раствор добавляют аминокислоту или смесь аминокислот при перемешивании до полного растворения компонентов с последующим охлаждением раствора до комнатной температуры и стерилизацией при 120°С в течение 15 мин. 5. Способ по п.4, отличающийся тем, что аминокислоту выбирают из ряда изолейцин, треонин, аланин, глицин, пролин, таурин, цистеин, аргинин. 6. Способ по п.4, отличающийся тем, что смесь аминокислот используют в различных комбинациях при соотношении 1,0:(0,3-1,0).» [21]</p>

Продолжение таблицы 2

Название, номер и дата патента	Авторы патента	Краткое описание патента
1	2	3
<p>Стабильный водный раствор кальция глюконата для инъекций Заявка: 2012107788/15, 2012.03.01</p>	<p>Боровиков В. Э., Виноградов В. А.</p>	<p>«Задачей предлагаемого изобретения является устранение недостатков раствора кальция глюконата для инъекций, при этом технический результат, достигаемый при решении поставленной задачи, состоит в повышении стабильности раствора кальция глюконата 10% для инъекций, и, как следствие, в увеличении сроков его хранения, устойчивости к низким температурам, процедурам замораживания-размораживания, устойчивости к механическим воздействиям (встряхиванию). Поставленный результат достигается тем, что к стабильному водному раствору кальция глюконата для инъекций добавляют в качестве стабилизатора дикарбоновую кислоту общей формулы <math>\text{HOOC-X-COOH}</math>, где: <math>\text{X}=(\text{CH}_2)_n</math>, <math>n=1\div 5</math>.» [28]</p>

## 1.4 Обзор научной литературы, посвященной изучению раствора кальция глюконата

Среди источников научной литературы встречаются труды, посвященные изучению состава и структуры молекулы кальция глюконата и его водного раствора, помимо изучения строения приведены результаты исследований физико-химических и структурно-чувствительных свойств вещества и его раствора [4], [5], [17], [32].

В естественных условиях кальция глюконат существует в виде моногидрата (рисунок 4). Структура молекулы кальция глюконата характерна наличием внутримолекулярных водородных связей между атомами водорода и атомами кислорода (в OH группе). Упорядоченное расположение атомов в молекуле обеспечивает компактную пространственно закрытую структуру.

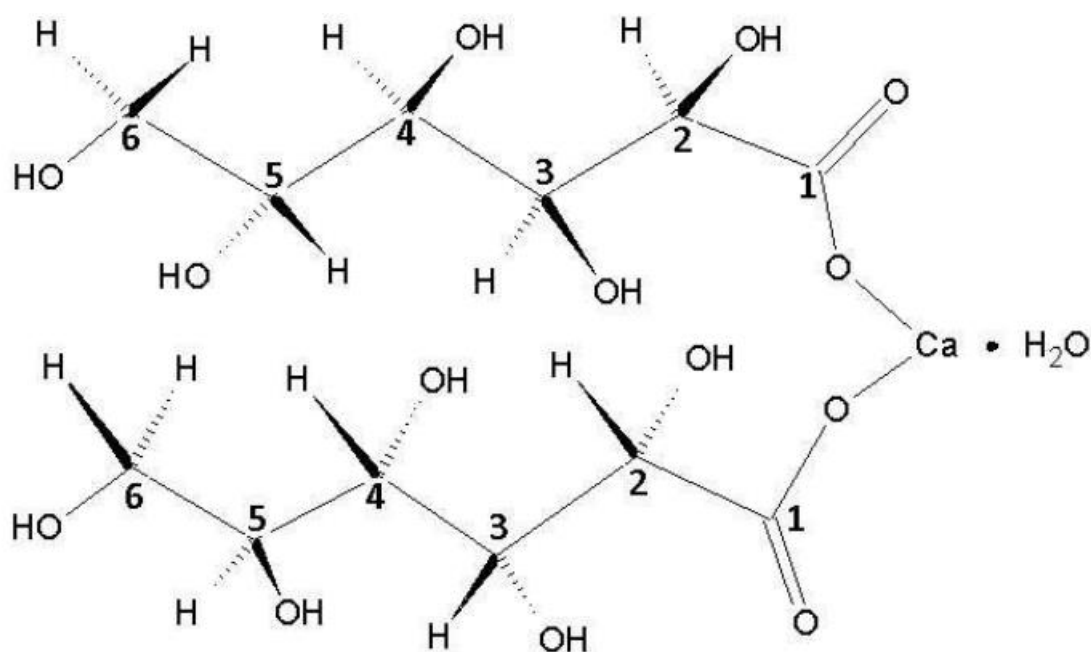


Рисунок 4 – Структурная формула моногидрата кальция глюконата

Согласно проведенным исследованиям [4] в водных растворах молекулы кальция глюконата могут существовать в виде двух конформаций:

зигзагообразной (1P) и циклической (3G+). Визуальное изображение зигзагообразной и циклической конформации молекул кальция глюконата в водном растворе представлены на рисунке 5.

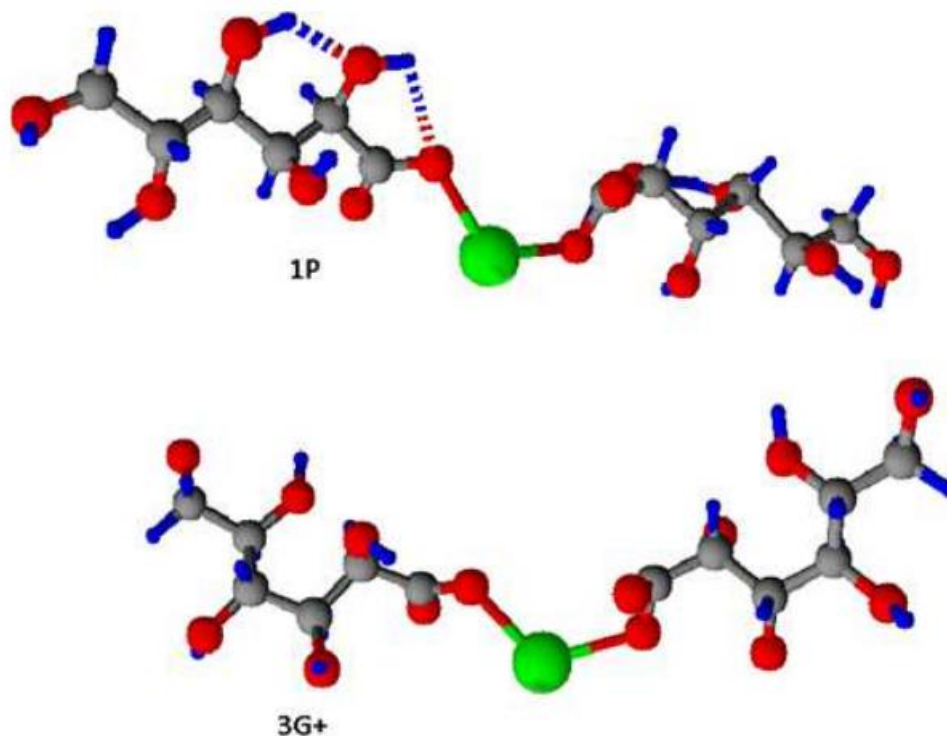


Рисунок 5 – Конформации молекул кальция глюконата в водном растворе: зигзагообразная 1P (верхний рисунок) и циклическая 3G+ (нижний рисунок)

В зигзагообразной конформации углеродный скелет молекулы находится в одной плоскости и стабилизируется за счет внутримолекулярных водородных связей. Циклическая конформация формируется из зигзагообразной путем вращения углерод-углеродной связи (между третьим и четвертым атомом углерода) на  $120^\circ$ . Предполагают, что при повышении концентрации кальция глюконата в растворе равновесие сдвигается в сторону образования зигзагообразной конформации.

При попадании кальция глюконата в воду происходит разрушение водных ассоциатов за счет большого размера глюконат-анионов. Вследствие этого в растворе появляются области с беспорядочной структурой воды, далее происходит формирование гидратных оболочек вокруг гидроксильных

групп молекулы кальция глюконата. При достижении концентрации кальция глюконата в водном растворе до значения 35 мг/мл раствор все еще остается стабильным, но при дальнейшем повышении концентрации кальция глюконата в растворе наблюдается помутнение и выпадение кристаллов. Доказанный положительный терапевтический эффект при лечении лекарственным препаратом «Кальция глюконатом» достигается при концентрации действующего вещества в растворе 100 мг/мл.

В литературных источниках [3], [7], [15], [23], [24] приведены результаты исследований способности к растворению, стабильности и поведения кальция глюконата в растворе в присутствии других веществ: лимонной и яблочной кислоты, кальция лактата, аминокислот и других солей и кислот. При введении в состав раствора кальция глюконата другой кальциевой соли (кальция лактата или кальция аскорбата) повышается растворимость кальция глюконата. Такой эффект связан с образованием двойной соли в растворе, что в свою очередь приводит к стабилизации системы в целом. Наличие карбоновых оксикислот (яблочной или лимонной кислоты) в растворе кальция глюконата также положительно сказывается на стабильном состоянии раствора за счет межмолекулярных взаимодействий компонентов раствора и образования комплексных соединений.

К проверенным методам повышения стабилизации растворов труднорастворимых веществ также относят некоторые технологические приемы: повышение температуры процесса растворения (вплоть до кипения раствора), введение в раствор соразтворителей (повышение вязкости раствора), введение щелочных или кислотных компонентов в раствор (изменение pH раствора). Вышеперечисленные технологические приемы применимы и к раствору кальция глюконата.

Из источников научной литературы была получена базовая информация, на основании которой построена научно-исследовательская работа в рамках оптимизации технологии производства лекарственного препарата «Кальция глюконат».

## **2 Экспериментальная часть**

### **2.1 Исследования актуального состава раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат»**

в данной части работы описаны следующие эксперименты:

–приготовление раствора кальция глюконата по существующей технологии и установление момента начала помутнения и кристаллизации раствора кальция глюконата;

–приготовление растворов кальция глюконата по аналогии с актуальной существующей технологией, но с увеличенной концентрацией вспомогательного вещества (янтарной кислоты). сравнение поведения обновленного состава раствора кальция глюконата с первоначальным составом;

–определение растворимости кальция глюконата в присутствии янтарной кислоты, взятой в количестве, соответствующей существующей технологии;

–выделение кристаллов, образовавшихся в ходе эксперимента. изучение кристаллов методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

#### **2.1.1 Приготовление растворов кальция глюконата**

##### **2.1.1.1 Материалы и оборудование, использованные в приготовлении**

Кальция глюконат, янтарная кислота, натрия гидроксид (1М раствор натрия гидроксида), вода для инъекций, стеклянная баночка на 250 мл, магнитная мешалка с подогревом и термодатчиком, якорь для магнитной мешалки, весы аналитические, установка для вакуумного фильтрования (стеклянный фильтродержатель, приемная колба на 1000 мл, стеклянная воронка на 200 мл, алюминиевый зажим, фильтр из полиэфирсульфона с

размером пор 0,45 мкм, вакуумный насос), мерная стеклянная колба на 100 мл, стеклянная пипетка на 5 мл с фингером (пипетатором), стеклянный стаканчик (для развеса), мерная ложечка из нержавеющей стали (для развеса), водяная баня (стеклянная емкость объемом 1000 мл с водой комнатной температуры).

### **2.1.1.2 Ход экспериментов**

Целью экспериментов является определение момента начала помутнения и кристаллизации раствора кальция глюконата, а также определение концентрации янтарной кислоты в составе раствора, при которой раствор будет стабильным (будет отсутствовать помутнение и кристаллизация раствора в процессе и по окончании приготовления). В связи с этим необходимо провести ряд экспериментов.

Эксперимент № 1 – приготовление раствора кальция глюконата по существующей технологии согласно фармакопейной статье предприятия (содержание янтарной кислоты 5 мг/мл).

Эксперимент № 2, 3 и 4 – приготовление раствора кальция глюконата по аналогии по существующей технологии, но с увеличенной концентрацией янтарной кислоты (содержание янтарной кислоты 10, 15 и 20 мг/мл соответственно).

По окончании проведения экспериментов № 1, 2, 3 и 4 и анализа полученных результатов было принято решение о необходимости проведения дополнительного эксперимента № 5, целью которого является приготовление раствора кальция глюконата (100 мг/мл) без добавления вспомогательных веществ (янтарной кислоты и 1М раствора натрия гидроксида). Данный эксперимент необходим для изучения поведения раствора кальция глюконата без присутствия вспомогательных веществ.

Затем был проведен эксперимент № 6, целью которого является определение растворимости кальция глюконата в присутствии янтарной кислоты, взятой в количестве, соответствующей существующей технологии (5 мг/мл).

Перед проведением экспериментов была проведена калибровка аналитических весов гирей (номинальной массой 10 г) и рН-метра буферными растворами по трем точкам (рН буферных растворов 4,01; 6,86; 9,18).

Расчет необходимого количества сырья для проведения экспериментов производился по формуле (1). Результаты расчетов приведены в приложении А.

$$M_c = \frac{C_c \cdot V_{p-ра}}{1000}, \quad (1)$$

где  $M_c$  – масса сырья, г;

$C_c$  – концентрация сырья, мг/мл;

$V_{p-ра}$  – объем раствора, мл.

Все эксперименты проводились в лабораторных условиях «чистых» помещений класса «С».

### **2.1.1.3 Методика приготовления раствора**

#### **1) Набор ВДИ.**

В стеклянную баночку заливают необходимое количество ВДИ и помещают якорь для магнитной мешалки. Стеклобаночку с ВДИ помещают на магнитную мешалку с подогревом. В баночку помещают термодатчик магнитной мешалки. Скорость магнитной мешалки устанавливают на 400 об/мин, а температуру нагревательной платформы регулируют в диапазоне от 30 °С до 105 °С.

#### **2) Развес сырья.**

На аналитические весы помещают стеклянный стаканчик (для развеса), дожидаются успокоения показаний весов и с помощью мерной ложечки (для порошкообразного сырья) или пластикового шприца (для жидкого сырья) отвешивают рассчитанное количество сырья в стеклянный стаканчик.

#### **3) Загрузка сырья.**



Отвешенное количество сырья загружают в баночку с ВДИ. Ополаскивают стеклянный стаканчик ВДИ (в котором было сырье), переливают воду в баночку с раствором и перемешивают в течение определенного времени.

Загрузка кальция глюконата в баночку с ВДИ происходит медленно и порциями с ожиданием между загрузками 10–15 секунд.

#### 4) Охлаждение раствора.

Баночку с раствором переносят на платформу другой магнитной мешалки (без подогрева), охлаждают раствор до 70 °С естественным способом. Затем баночку с раствором помещают в водяную баню, ставят обратно на платформу магнитной мешалки и охлаждают до 30–35 °С. В процессе охлаждения продолжается перемешивание раствора.

#### 5) Добавление 1М раствора натрия гидроксида.

В баночку помещают датчик рН-метра и производят измерение рН полученного раствора. В случае если значение рН находится ниже диапазона 6,6–7,3, то производят корректировку рН 1М раствором натрия гидроксида до значений 6,6–7,3. В случае если значение рН находится в пределах диапазона 6,6–7,3, то корректировку рН не производят. 1М раствор натрия гидроксида вносят в раствор с помощью пипетки. После внесения порции 1М раствора натрия гидроксида и перед очередным измерением рН, раствор перемешивают с помощью магнитной мешалки в течение 20–30 секунд.

#### 6) Доведение объема раствора до целевого значения.

Полученный раствор переливают в мерную колбу (на 100 или 1000 мл), доводят объем полученного раствора до метки (до 100 или 1000 мл) с помощью ВДИ. Далее переносят готовый раствор в чистую стеклянную баночку.

#### 7) Фильтрация раствора.

Переливают готовый раствор в стеклянную воронку установки для вакуумной фильтрации, дожидаются полного смачивания мембранного фильтра (до первой капли в приемной колбе) и проводят фильтрацию

раствора через мембранный фильтр (путем разряжения давления в приемной колбе с помощью вакуумного насоса).

#### 2.1.1.4 Порядок приготовления растворов из экспериментов № 1–6

Порядок приготовления растворов из экспериментов № 1, 2, 3, 4, 5 и 6 представлен в таблице 3:

Таблица 3 – Порядок приготовления растворов из экспериментов № 1–6

№	Порядок приготовления раствора
1	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка ЯК (0,5 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,94) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → охлаждение (до 30 °С)
2	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка ЯК (1 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,99) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → охлаждение (до 30 °С)
3	загрузка ВДИ (40 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка ЯК (1,5 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 7,03) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → охлаждение (до 30 °С)
4	загрузка ВДИ (35 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка ЯК (2 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,91) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → охлаждение (до 30 °С)
5	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → охлаждение (до 30 °С)
6	загрузка ВДИ (30 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка ЯК (0,5 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка КГ (0,5 г, 0,5 г, 1 г, 1 г, 1 г, 1 г, 1 г) + перемешивание (10 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,84) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → охлаждение (до 30 °С)
ВДИ – вода для инъекций, ЯК – янтарная кислота, КГ – кальция глюконат, НГ – натрия гидроксид.	

Во всех экспериментах в готовых растворах наблюдалось помутнение и выпадение кристаллов. Готовые растворы были отфильтрованы на установке вакуумной фильтрации (по отдельности). По окончании фильтрации растворов на фильтрах осталось небольшое количество мелких и крупных кристаллов. Кристаллы на фильтре были высушены и взвешены. Выделенные

кристаллы из экспериментов № 1 и 2 были изучены методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

### 2.1.2 Результаты проведенных экспериментов

Краткая информация по экспериментам сведена в удобную форму и приведена в таблице 4:

Таблица 4 – Сводная таблица по экспериментам

№	Содержание компонентов раствора, г/дл				Масса выделенных кристаллов, мг	Температура помутнения раствора, °С
	КГ	ЯК	НГ (расчётное)	ВДИ		
1	10	0,5	0,324	до 100 мл	~ 50	63
2	10	1,0	0,662		~ 40	62
3	10	1,5	1,008		30	52
4	10	2,0	1,330		41	61
5	10	-	-		23	59
6	6	0,5	0,330		12	55

КГ – кальция глюконат, ЯК – янтарная кислота, НГ – натрия гидроксид, ВДИ – вода для инъекций

Как видно из приведённых данных, увеличение концентрации янтарной кислоты в растворе кальция глюконата от 0,5 г/дл до 2,0 г/дл не привело к полному устранению кристаллообразования и помутнения раствора, а лишь снизило интенсивность помутнения и кристаллообразования. Была определена предельная концентрация кальция глюконата в растворе в присутствии 0,5 г/дл янтарной кислоты, при которой начинается образование кристаллов в растворе. Предельная концентрация составила 6 г/дл.

### 2.2 Исследование кристаллов кальция глюконата с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии

Исследования кристаллов, выделенных в ходе экспериментов № 1 и 2, проводилось методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии с помощью микроскопа Lext OLS4000, произведенного компанией Olympus.

Принцип работы микроскопа Lext OLS4000 основан на использовании конфокальной оптической схемы. Ее суть заключается в специальной диафрагме, размещенной между детектором отраженного излучения и исследуемым объектом, на который падает свет. Диафрагма представляет собой непрозрачный диск с маленьким отверстием в центре. Диафрагма устанавливается таким образом, чтобы через нее могли проходить только те лучи света, которые отражаются от точек поверхности, находящихся в фокальной плоскости объектива микроскопа. В то же время попадание на детектор так называемых внефокусных лучей света, которые отражаются от областей поверхности, расположенных выше и ниже фокальной плоскости, ограничено. В качестве источника света в данном микроскопе используется полупроводниковый фиолетовый лазер с длиной волны 405 нм, что позволяет достичь разрешающей способности в исследуемой плоскости, равной ~120 нм. Интенсивность излучения лазера определяет яркость изображения и может задаваться пользователем. Луч лазера, пройдя через систему оптических элементов, попадает на двухкоординатный электромагнитный сканер, после чего проходит через один из объективов и фокусируется на определенной точке поверхности образца. Отразившись от поверхности, луч проходит через объектив микроскопа и с помощью дихроичного зеркала перенаправляется в конфокальную диафрагму, отсекающую внефокусные лучи света, после чего попадает в детектор (фотоумножитель), в котором регистрируется мгновенное значение интенсивности луча. С помощью сканера лазерный луч с высокой частотой «построчно» сканирует в горизонтальной плоскости XY поверхность объекта, находящуюся в поле зрения объектива. При этом детектор производит регистрацию значений интенсивности через равные промежутки времени и записывает их в память компьютера. Таким образом, изображение оказывается сформировано из некоторого количества точек (пикселей) с известными значениями интенсивности. Количество точек определяет разрешение получаемого изображения. Для стандартных задач оно равно

1024×1024 точек. Увеличение микроскопа регулируется путем выбора одного из пяти стандартных объективов [19].

По результатам исследования были получены микрофотографии образцов кристаллов, которые изображены на рисунках 6, 7, 8 и 9.

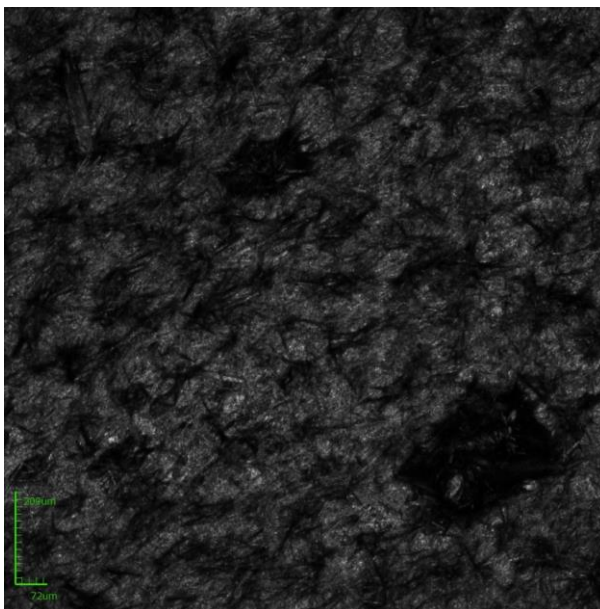


Рисунок 6 – Микрофотография кристаллов кальция глюконата из эксперимента № 1, сделанная в стандартных условиях (без подсветки)

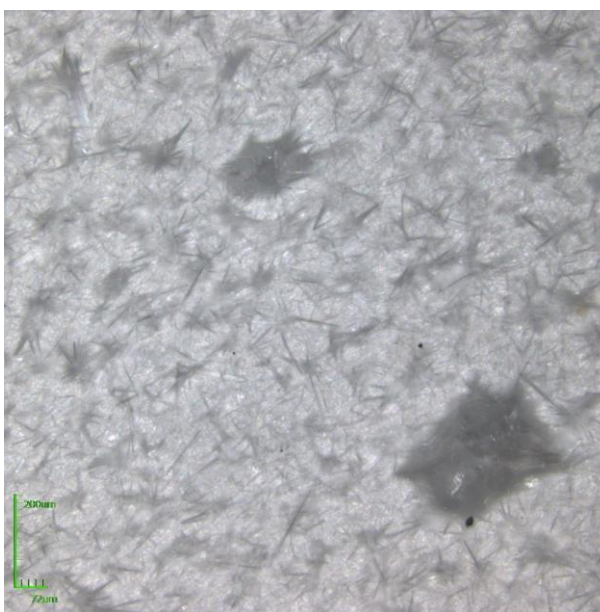


Рисунок 7 – Микрофотография кристаллов кальция глюконата из эксперимента № 1, сделанная с подсветкой образца

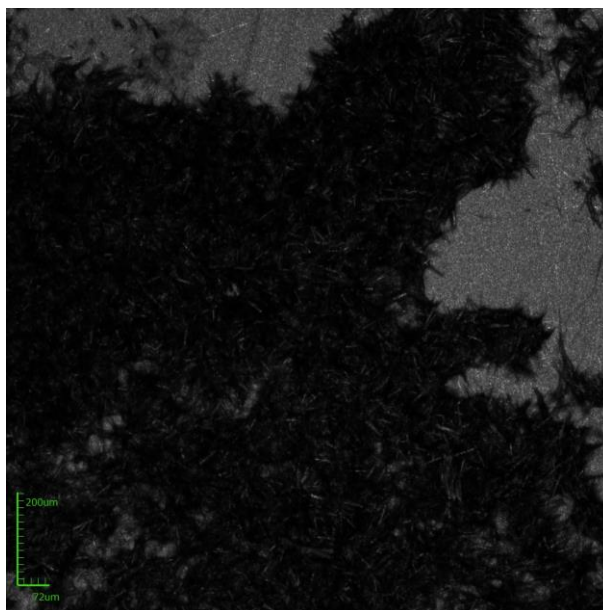


Рисунок 8 – Микрофотография кристаллов кальция глюконата из эксперимента № 2, сделанная в стандартных условиях (без подсветки)

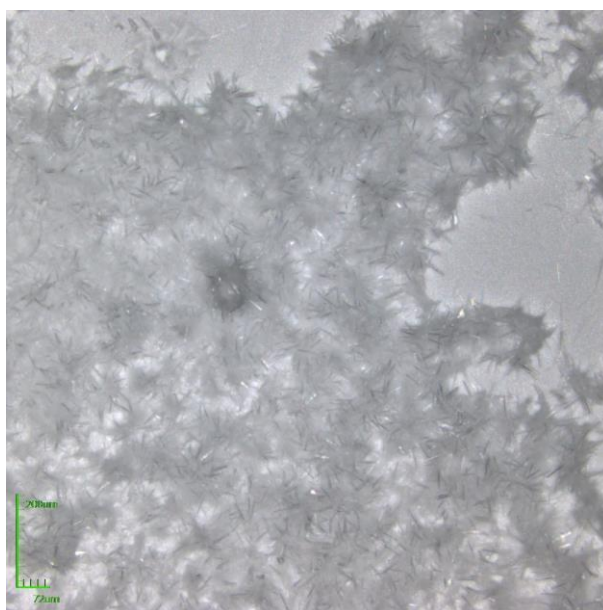


Рисунок 9 – Микрофотография кристаллов кальция глюконата из эксперимента № 2, сделанная с подсветкой образца

На микрофотографиях видны вытянутые игольчатые кристаллы, расположенные по отдельности и собранные в группы (зародившиеся от одного центра кристаллизации). Кристаллы, полученные в ходе эксперимента № 1 и 2, отличаются друг от друга по размерам. На рисунках 6

и 7 различными кристаллы размером от 34 до 146 мкм, а на рисунках 8 и 9 заметны кристаллы от 17 до 39 мкм.

Таким образом, по полученным результатам можно сделать вывод, что увеличение концентрации янтарной кислоты и гидроксида натрия в растворе кальция глюконата приводит к снижению количества и размера образующихся кристаллов, но не решает полностью проблему стабилизации этого раствора.

### **2.3 Подбор нового состава и параметров приготовления раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат»**

В ходе экспериментов в данной части работы были исследованы следующие факторы, влияющие на стабилизацию раствора:

–увеличение температуры процесса растворения (вплоть до кипячения раствора при 105 °С) и времени перемешивания при внесении компонентов в раствор;

–введение дополнительной стадии фильтрации раствора через мембранный фильтр после полного растворения компонентов раствора (для удаления из раствора посторонних механических включений – потенциальных центров кристаллизации раствора);

–увеличение вязкости раствора путем введения в раствор соразтворителя (пропиленгликоля) разной концентрации;

–замена янтарной кислоты на молочную кислоту или глицин разной концентрации;

–изменение порядка внесения компонентов в раствор;

–комбинирование вышеперечисленных факторов.

#### **2.3.1 Описание экспериментов**

Целью экспериментов является подбор состава лекарственного препарата, изменение или добавление технологических стадий производства, изменение порядка ввода компонентов в раствор и изменение

технологических параметров для получения наиболее стабильного готового раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат» с концентрацией активного вещества 100 мг/мл. В связи с этим были проведены еще 14 экспериментов (№ 7–20).

Эксперимент № 7 – Приготовление раствора кальция глюконата по существующей актуальной технологии (согласно фармакопейной статье предприятия), но с заменой янтарной кислоты на молочную кислоту.

Эксперимент № 8 – Приготовление раствора кальция глюконата со стандартным составом (с янтарной кислотой и натрия гидроксидом), но с изменением порядка внесения компонентов в раствор (кальция глюконат вносится первым), с добавлением стадии фильтрации после внесения первого компонента в раствор и с увеличением температуры процесса растворения (с 85 °С до 95 °С).

Эксперимент № 9 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 8, но с увеличением концентрации янтарной кислоты (с 5 до 10 мг/мл) и добавлением стадии фильтрации раствора после внесения первых двух компонентов (кальция глюконата и янтарной кислоты).

Эксперимент № 10 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 9, но с увеличением температуры процесса растворения (с 95 °С до 105 °С, до кипячения раствора) и добавлением стадии фильтрации раствора после внесения всех компонентов.

Эксперимент № 11 – Приготовление раствора кальция глюконата с использованием в качестве вспомогательного вещества только пропиленгликоля (в качестве соразтворителя) с концентрацией 100 мг/мл, со стандартными технологическими параметрами процесса и внесением стадии фильтрации по окончании приготовления раствора.

Эксперимент № 12 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 11, но с увеличенной концентрацией



пропиленгликоля (со 100 до 200 мг/мл) и с последовательным увеличением температуры процесса растворения (с 85°C до 105 °C).

Эксперимент № 13 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 11, но с увеличением концентрации пропиленгликоля (со 100 до 150 мг/мл).

Эксперимент № 14 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 13, но с добавлением в состав раствора янтарной кислоты (с концентрацией 5 мг/мл) и натрия гидроксида.

Эксперимент № 15 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 14, но с увеличенной концентрацией пропиленгликоля (со 150 до 200 мг/мл) и с увеличением температуры процесса растворения (с 85 °C до 105 °C).

Эксперимент № 16 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 14, но с увеличенной концентрацией пропиленгликоля (со 150 до 190 мг/мл) и янтарной кислоты (с 5 до 10 мг/мл) и с увеличением температуры процесса растворения (с 85 °C до 105 °C).

Эксперимент № 17 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 16, но с заменой янтарной кислоты на молочную кислоту с той же концентрацией (10 мг/мл).

Эксперимент № 18 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 16, но с заменой янтарной кислоты на глицин с той же концентрацией (10 мг/мл).

Эксперимент № 19 – Воспроизведение эксперимента № 17, но с молочной кислотой другого производителя и ее конечной концентрацией в растворе 10 мг/мл.

Эксперимент № 20 – Приготовление раствора кальция глюконата по аналогии с экспериментом № 19, но с увеличенной концентрацией молочной кислоты (с 10 до 20 мг/мл).

Расчет необходимого количества сырья для проведения экспериментов производился по формуле (1) (пункт 2.1.1.2). Результаты расчетов приведены в приложении А.

Все эксперименты проводились в лабораторных условиях «чистых» помещений класса «С».

### 2.3.2 Порядок приготовления растворов из экспериментов № 7–20

Порядок приготовления растворов из экспериментов № 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20 представлен в таблице 5:

Таблица 5 – Порядок приготовления растворов из экспериментов № 7–20

№	Порядок приготовления раствора
7	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 85 °С) → загрузка МК (0,5 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,95) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) + перемешивание (15 мин) → охлаждение (до 30 °С)
8	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 95 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → фильтрация → загрузка ЯК (0,5 г) + перемешивание (15 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 7,01) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 95 °С) + перемешивание (15 мин) → охлаждение (до 30 °С)
9	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 95 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → загрузка ЯК (1 г) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,93) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 95 °С) + перемешивание (15 мин) → охлаждение (до 30 °С)
10	загрузка ВДИ (50 мл) → нагрев (до 95 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (10 мин) → загрузка ЯК (1 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (60 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,89) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → охлаждение (до 30 °С)
11	загрузка ВДИ (50 мл) → загрузка ПГ (10 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 85 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
12	загрузка ВДИ (40 мл) → загрузка ПГ (20 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 85 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (20 мин) → нагрев (до 95 °С) + перемешивание (20 мин) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (20 мин) → <b>раствор так и остался мутным (кальция глюконат не растворился)</b>

Продолжение таблицы 5

№	Порядок приготовления раствора
13	загрузка ВДИ (50 мл) → загрузка ПГ (15 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 85 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → фильтрация → нагрев (до 85 °С) + перемешивание (15 мин) → охлаждение (до 30 °С)
14	загрузка ВДИ (40 мл) → загрузка ПГ (15 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ЯК (0,5 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 85 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до pH = 6,82) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 85 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
15	загрузка ВДИ (30 мл) → загрузка ПГ (20 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ЯК (0,5 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 85 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → нагрев (до 85 °С) + перемешивание (30 мин) → загрузка ЯК (0,5 г) + перемешивание (30 мин) → <b>раствор так и остался мутным (кальция глюконат не растворился)</b>
16	загрузка ВДИ (30 мл) → загрузка ЯК (1 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (19 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до pH = 6,94) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 105 °С) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
17	загрузка ВДИ (30 мл) → загрузка МК (1 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (19 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до pH = 10,25) → загрузка МК (1 г) → добавление 1М раствора НГ (до pH = 6,94) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
18	загрузка ВДИ (30 мл) → загрузка ГЛ (1 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (19 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → догрузка ВДИ → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
19	загрузка ВДИ (30 мл) → загрузка МК (1 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (19 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до pH = 7,19) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
20	загрузка ВДИ (30 мл) → загрузка МК (2 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (19 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (10 г) + перемешивание (30 мин) → охлаждение (до 30 °С) → добавление 1М раствора НГ (до pH = 6,76) → догрузка ВДИ (до 100 мл) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
ВДИ – вода для инъекций, МК – молочная кислота, КГ – кальция глюконат, НГ – натрия гидроксид, ЯК – янтарная кислота, ПГ – пропиленгликоль, ГЛ – глицин.	

В экспериментах № 7, 8, 9, 10, 11 и 13 в готовых растворах наблюдалось помутнение и выпадение кристаллов. Готовые растворы были

отфильтрованы на установке вакуумной фильтрации (по отдельности). По окончании фильтрации растворов на фильтрах осталось небольшое количество мелких и крупных кристаллов. Кристаллы на фильтре были высушены и взвешены.

В экспериментах № 12 и 15 кальция глюконат не растворился до конца, раствор так и оставался мутным. Растворы из данных экспериментов так же были отфильтрованы на установке вакуумной фильтрации (по отдельности). По окончании фильтрации раствора из эксперимента № 12 на фильтре осталась пастообразная масса. По окончании фильтрации раствора из эксперимента № 15 на фильтре остался кристаллический слой, который в дальнейшем был высушен и взвешен.

В экспериментах № 14, 16, 17, 18, 19 и 20 по окончании приготовления растворы оставались прозрачными, в этих растворах не было обнаружено кристаллов. Растворы из данных экспериментов были заложены на хранение в течение 24 часов в помещении с температурой воздуха 18–20 °С и относительной влажностью воздуха 40–50 %. В растворах из экспериментов № 14, 16, 18, 19 и 20 через 24 часа хранения был обнаружен кристаллический осадок в большом количестве (эксперимент № 14, 16 и 18) или мелкодисперсный кристаллический осадок в небольшом количестве (эксперимент № 19 и 20). Раствор из эксперимента № 17 оставался прозрачным по окончании хранения в течение 24 часов, данный раствор был оставлен на хранение еще на 12 часов. Еще через 8 часов раствор был уже мутным, и еще через 4 часа выпало большое количество кристаллов.

### **2.3.3 Результаты проведенных экспериментов**

Краткая информация по всем проведенным экспериментам данного раздела сведена в удобную форму и приведена в таблице 6.

Таблица 6 – Сводная информация по экспериментам

Эксперимент	Состав раствора на 100 мл, г							рН готового раствора	Время t до начала помутнения готового раствора, мин	Масса выпавших кристаллов , мг
	КГ	ЯК	МК	ГЛ	ПГ	НГ	ВДИ			
7		-	0,5	-	-	0,144	до 100 мл	6,97	3	20
8		0,5	-	-	-	0,336		7,03	8	28
9	10	1	-	-	-	0,644		6,90	4	32
10		1	-	-	-	0,668		6,87	2	22
11		-	-	-	10	-		6,78	3	10
12		-	-	-	20	-	≈ 65 мл	-	-	-
13		-	-	-	15	-	до 100 мл	6,76	7	36
14		0,5	-	-	15	0,32		6,83	60 < t < 1440	-
15		1	-	-	20	-	≈ 65 мл	-	-	58
16		1	-	-	19	0,62	до 100 мл	6,94	60 < t < 1440	-
17		-	1+1	-	19	0,852		6,94	1440 < t < 1920	-
18		-	-	1	19	-		6,75	60 < t < 1440	-
19		-	1	-	19	0,32		7,18	60 < t < 1440	-
20		-	2	-	19	0,664		6,78	60 < t < 1440	-

КГ – кальция глюконат, ЯК – янтарная кислота, МК – молочная кислота, ГЛ – глицин, ПГ – пропиленгликоль, НГ – натрия гидроксид, ВДИ – вода для инъекций.

Наилучший результат по продолжительности стабильного состояния готового раствора показал состав из эксперимента № 17. Первоначально данный эксперимент пошел не по плану, при добавлении 1М раствора натрия

гидроксида значение рН раствора было больше необходимого значения (10,25 при норме 6,0–7,5), для снижения показателя рН в раствор была добавлена еще одна порция молочной кислоты и затем снова проведена корректировка показателя рН до нормируемых значений. В качестве вспомогательных веществ в эксперименте № 17 использовалась: молочная кислота (стабилизатор), пропиленгликоль (соразтворитель), натрия гидроксид (щелочной агент). Температура раствора при приготовлении достигала 105 °С, по окончании приготовления раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм [1].

Полученный раствор кальция глюконата в данном эксперименте оставался стабильным (отсутствовало помутнение раствора и выпадение кристаллов) на протяжении 24 часов. В условиях промышленного производства раствора 24 часов достаточно чтобы произвести полноценную серию (стерилизующую фильтрацию раствора, розлив в ампулы и стерилизацию раствора в ампуле автоклавированием) без возникновения трудностей, связанных с помутнением раствора и выпадением кристаллов [1].

#### **2.4 Исследование момента кристаллообразования раствора кальция глюконата**

Исследования в предыдущей части работы помогли подобрать оптимальный состав раствора и технологические параметры процесса приготовления, при которых раствор кальция остается стабильным (отсутствует самопроизвольное помутнение раствора и выпадение кристаллов) в течение более 24 часов с момента окончания приготовления.

Чтобы выполнить поставленные задачи и достичь цели всей научно-исследовательской работы, были проведены следующие мероприятия:

–исследована зависимость роста количества частиц размером  $\geq 10$  мкм и  $\geq 25$  мкм от момента окончания приготовления раствора (нового состава) и до момента его помутнения и кристаллизации;

–изготовлено шесть растворов (нового состава) по различным вариантам технологии производства растворов стерильных лекарственных средств;

–все шесть вариантов раствора кальция глюконата заложены для исследования стабильности в процессе хранения методом ускоренного старения (при 40 °С);

–на основании информации по исследованию стабильности выбран наиболее надежный и выгодный вариант технологии производства раствора кальция глюконата (с обновленным составом);

–произведено масштабирование и перенос производства раствора кальция глюконата из лабораторных условий в производственные условия, выбрано оборудования, составлена технологическая схема, рассчитаны теоретические нормы расхода сырья и упаковочных материалов, а также материальные балансы по стадиям производства;

–произведена промышленная (валиадационная) серия лекарственного препарата с обновленным составом.

#### **2.4.1 Описание экспериментов**

Целью экспериментов является приготовление двух растворов кальция глюконата и исследование изменения количества частиц в растворе с течением времени с помощью специального оборудования (счетчика частиц в жидкости НІАС 9703+). На основании результатов проведенных экспериментов был выбран наиболее стабильный состав раствора кальция глюконата (из эксперимента № 17). В каждом эксперименте приготовлен раствор с одинаковым составом, но с одним отличием – в составе раствора используется молочная кислота от разных производителей (Китай и Испания).

В эксперименте № 21 использовалась молочная кислота от производителя «Хенан Джиндан Лактик Эсид Технолоджи Ко., Лтд.» (Китай), а в эксперименте № 22 от производителя «Панреак Кимика» (Испания).

Расчет необходимого количества сырья для проведения экспериментов производился по формуле (1) (пункт 2.1.1.2). Результаты расчетов приведены в приложении А.

Все эксперименты проводились в лабораторных условиях «чистых» помещений класса «С».

#### **2.4.2 Методика проведения экспериментов**

Методика проведения экспериментов аналогична методике проведения эксперимента № 17, но с небольшими изменениями. Изменения коснулись части приготовления раствора на этапе добавления 1М раствора натрия гидроксида. После загрузки и растворения всех основных компонентов раствора (первой части молочной кислоты, пропиленгликоля и кальция глюконата) и после охлаждения раствора до 35 °С в раствор вносится 1М раствор натрия гидроксида до значений рН 9,8–10,2. Затем производится перемешивание раствора в течение 30 минут, по окончании перемешивания в раствор вносится вторая часть молочной кислоты. После этого измеряется рН раствора, затем данный показатель доводится до значений 6,6–7,3 с помощью 1М раствора натрия гидроксида.

Перед проведением экспериментов была осуществлена калибровка аналитических весов гирей (номинальной массой 10 г) и рН-метра буферными растворами по трем точкам (рН буферных растворов 4,01, 6,86, 9,18). Вся лабораторная посуда была очищена с помощью ВДИ и высушена с помощью воздуха на сушильной установке, которая потребляет воздух из окружающей среды чистого помещения класса «С».

#### **2.4.3 Порядок приготовления растворов из экспериментов № 21, 22**

Порядок приготовления растворов из экспериментов № 21 и 22 представлен в таблице 7:



Таблица 7 – Порядок приготовления растворов из экспериментов № 21 и 22

№	Порядок приготовления раствора
21	загрузка ВДИ (400 мл) → загрузка МК (5 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (190 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (100 г) + перемешивание (60 мин) → охлаждение (до 35 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 10,20) → перемешивание (30 мин) → загрузка МК (5 г) + перемешивание (5 мин) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,93) → догрузка ВДИ (до 1000 мл) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
22	загрузка ВДИ (400 мл) → загрузка МК (5 г) + перемешивание (5 мин) → загрузка ПГ (190 г) + перемешивание (5 мин) → нагрев (до 105 °С) → загрузка КГ (100 г) + перемешивание (60 мин) → охлаждение (до 35 °С) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 10,24) → перемешивание (30 мин) → загрузка МК (5 г) + перемешивание (5 мин) → добавление 1М раствора НГ (до рН = 6,97) → догрузка ВДИ (до 1000 мл) → нагрев (до 105 °С) + перемешивание (15 мин) → фильтрация → охлаждение (до 30 °С)
ВДИ – вода для инъекций, МК – молочная кислота, ПГ – пропиленгликоль, КГ – кальция глюконат, НГ – натрия гидроксид.	

#### 2.4.4 Определение количества частиц в жидкости

##### 2.4.4.1 План определения количества частиц в полученных растворах

Полученные растворы из экспериментов № 21 и 22 были разделены по частям и разлиты в баночки по 50 мл (репрезентативные пробы), это было сделано для того, чтобы в дальнейшем при определении количества частиц исключить нежелательное внесение посторонних частиц в общий объем раствора. Далее через определенный промежуток времени с помощью счетчика частиц жидкости НІАС 9703+ были исследованы репрезентативные пробы раствора. Первая временная точка определения количества частиц в жидкости была спустя час с момента приготовления раствора (по окончании фильтрации готового раствора), затем определения проводились с периодичностью в два часа и по достижении 24 часов с момента окончания приготовления раствора и далее каждый час до момента образования кристаллов в растворе (временные точки: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 24 часов и далее).

##### 2.4.4.2 Принцип работы счетчика частиц в жидкости НІАС 9703+

Данный прибор предназначен для подсчета концентрации твёрдых частиц различного происхождения в жидкой среде счетно-фотометрическим методом [14]. Конструктивно прибор представляет собой сенсорный блок и систему пробоотбора.

Принцип действия сенсоров прибора – оптический и основан на регистрации пропускаемого и рассеянного оптического излучения частицами, взвешенными в анализируемой жидкости. Луч, формируемый источником излучения, попадает в кювету, где рассеивается находящимися на его траектории частицами. Пропускаемое или рассеянное излучение регистрируется с помощью фотодетектора. Изменение интегральной интенсивности пропускаемого или рассеянного излучения пропорционально размеру частицы ( $\geq 10$  мкм и  $\geq 25$  мкм), а количество последовательных импульсов – количеству частиц. Счётная концентрация частиц в жидкости определяется с помощью специализированного программного обеспечения как отношение количества зарегистрированных частиц к прокачанному через сенсор объёму жидкости.

#### **2.4.5 Результаты исследования**

Результаты исследования раствора из эксперимента № 21 представлены в таблице 8:

Таблица 8 – Результаты определения количества частиц в растворе из эксперимента № 21

№ пробы	Время измерения с момента окончания приготовления раствора, ч	Среднее число частиц размером 10 мкм и более, шт	Среднее число частиц размером 25 мкм и более, шт
1	1	247	23
2	3	320	33
3	5	457	53
4	7	512	67
5	9	577	81
6	11	680	100
7	13	877	128
8	15	993	152
9	17	1090	227
10	19	1383	298
11	21	2189	426
12	23	3673	589
13	24	6541	788
14	25	9722	1019
15	26	16602	1822
<b>16</b>	<b>27</b>	<b>26772</b>	<b>3965</b>

При исследовании раствора спустя 27 часов после окончания приготовления были обнаружены видимые кристаллы в растворе, как в исследуемом образце, так и в оставшихся образцах. После этого исследование по данному эксперименту были завершены, оставшийся раствор был утилизирован.

Результаты исследования раствора из эксперимента № 22 представлены в таблице 9:

Таблица 9 – Результаты определения количества частиц в растворе из эксперимента № 22

№ пробы	Время измерения с момента окончания приготовления раствора, ч	Среднее число частиц размером 10 мкм и более, шт	Среднее число частиц размером 25 мкм и более, шт
1	1	180	17
2	3	279	28
3	5	441	49
4	7	510	65
5	9	580	82
6	11	700	105
7	13	895	131
8	15	1012	160
9	17	1264	240
10	19	1602	337
11	21	2581	475
12	23	4758	693
13	24	9529	1236
<b>14</b>	<b>25</b>	<b>21802</b>	<b>2531</b>

При исследовании раствора спустя 25 часов после окончания приготовления были обнаружены видимые кристаллы в растворе, как в исследуемом образце, так и в оставшихся образцах. После этого исследование по данному эксперименту были завершены, оставшийся раствор был утилизирован.

Визуальное представление результатов исследования растворов из экспериментов № 21 и № 22 изображены на графиках, представленных на рисунках 10 и 11.



Рисунок 10 – Графическое изображение результатов исследования количества частиц в растворе № 21



Рисунок 11 – Графическое изображение результатов исследования количества частиц в растворе № 22

Согласно полученным данным в ходе экспериментов, наилучшие результаты по продолжительности сохранения стабильного состояния раствора (отсутствие кристаллообразования) показал раствор из эксперимента № 21, в состав которого входит молочная кислота от производителя «Хенан Джиндан Лактик Эсид Технолоджи Ко., Лтд.» (Китай). В дальнейших экспериментах использовалась молочная кислота данного производителя.

## **2.5 Производство раствора кальция глюконата по различным технологиям. Исследование стабильности полученных образцов**

### **2.5.1 Описание проведенных экспериментов**

На основании результатов проведенных экспериментов был окончательно выбран состав раствора кальция глюконата, который приведен в таблице 10.

Таблица 10 – Состав раствора кальция глюконат на 1 мл

Наименование вещества	Содержание вещества в 1 мл раствора, мг	Функциональное назначение
Кальция глюконат	100	Действующее вещество
Молочная кислота	10	Стабилизатор
Пропиленгликоль	190	Сорастворитель
Натрия гидроксид	до pH 6,6 – 7,3	Щелочной агент
Вода для инъекций	до 1 мл	Растворитель

Далее было произведено (приготовлено, наполнено и запаяно в ампулы) 6 вариантов раствора кальция глюконата по различным технологиям производства стерильных лекарственных средств [30]:

–вариант 1 – приготовление и розлив раствора с использованием азота (газовая защита лекарственного препарата) и проведение финишной стерилизации раствора в ампулах автоклавированием при режиме 121 °С в течение 8 минут;

–вариант 2 – приготовление и розлив раствора без использования азота и проведение финишной стерилизации раствора в ампулах автоклавированием при режиме 121 °С в течение 8 минут;

–вариант 3 – приготовление и розлив раствора с использованием азота (газовая защита лекарственного препарата) и проведение финишной стерилизации раствора в ампулах автоклавированием при режиме 105 °С в течение 30 минут;

–вариант 4 – приготовление и розлив раствора без использования азота и проведение финишной стерилизации раствора в ампулах автоклавированием при режиме 105 °С в течение 30 минут;

–вариант 5 – приготовление и розлив раствора с использованием азота (газовая защита лекарственного препарата) в асептических условиях производства;

–вариант 6 – приготовление и розлив раствора без использования азота в асептических условиях производства.

Далее все наполненные и запаянные ампулы, которые были получены в ходе производства, заложили на исследование стабильности методом ускоренного старения (при 40 °С). Из общего количества ампул, которые были получены в ходе производства, периодически (в определенный момент времени) отбирали часть ампул с раствором для проведения физико-химического анализа раствора для мониторинга стабильности приготовленных растворов.

### **2.5.2 Расчет необходимого сырья и упаковочных материалов (ампул)**

Расчет сырья и упаковочных материалов, необходимых на одну серию ведется исходя из необходимого количества образцов ампул с раствором, которые нужны для изучения стабильности раствора. Для проведения всех физико-химических анализов для одной временной точки исследования необходимо не менее 234 мл раствора. Номинальный объем раствора в одной

ампуле – 10 мл, следовательно, для анализа необходимо 24 ампулы с раствором.

Согласно методике ускоренного старения [9] один месяц хранения лекарственного препарата при 40 °С равен четырем месяцам естественного старения (при 20 °С). Согласно действующей нормативной документации на лекарственный препарат «Кальция глюконат» срок годности раствора в запаянной ампуле при температуре хранения не выше 25 °С равен двум годам. Следовательно, для мониторинга стабильности на протяжении всего срока годности необходимо сделать пять отборов образцов ампул с раствором в каждую из временных точек исследования:

–по окончании приготовления раствора, наполнения, запайки и стерилизации ампул – для технологии с финишной стерилизацией раствора в первичной упаковке (первая временная точка);

–по окончании приготовления раствора, наполнения и запайки ампул – для асептической технологии производства лекарственных препаратов (первая временная точка);

–через 1 месяц после розлива и запайки (соответствует 4 месяцам естественного хранения раствора);

–через 2 месяца после розлива и запайки (соответствует 8 месяцам естественного хранения раствора);

–через 3 месяца после розлива и запайки (соответствует 12 месяцам естественного хранения раствора);

–через 6 месяцев после розлива и запайки (соответствует 24 месяцам естественного хранения раствора).

Из вышеперечисленного следует, что для проведения всех анализов необходимо минимум 1170 мл раствора. С учетом возможных потерь и для удобства приготовления было принято решение готовить растворы в количестве 2000 мл ( $V_{p-ра}$ ). Расчет сырья проводился по формуле (1) (из пункта 2.1.1.2)) и по формуле (2):



$$M_{с\text{ техн}} = \frac{M_c \cdot 10000}{КО \cdot (100 - \text{Вл})}, \quad (2)$$

где  $M_{с\text{ техн}}$  – масса сырья с учетом количественного содержания и влажности, г;

КО – количественное определение сырья, %;

Вл – влажность/потеря массы при высушивании сырья, %.

Техническая масса сырья рассчитывается для того, чтобы в готовом растворе была концентрация веществ максимально близкая к номинальной (согласно данным из таблицы 10).

Расчет необходимого количества кальция глюконата на одну серию:

$$M_{(КГ)} = \frac{100 \cdot 2000}{1000} = 200 \text{ г}$$

$$M_{(КГ)\text{ техн}} = \frac{200 \cdot 10000}{99,6 \cdot (100 - 0,04)} = 200,884 \text{ г}$$

Расчет необходимого количества молочной кислоты на одну серию:

$$M_{(МК)} = \frac{10 \cdot 2000}{1000} = 20 \text{ г}$$

Для молочной кислоты делают пересчет количественного определения, пересчитывают 90%-ную молочную кислоту на 100%-ное содержание. Влажность молочной кислоты принимается равной 0 %.

$$M_{(МК)\text{ техн}} = \frac{20 \cdot 10000}{(91 \cdot 100/90) \cdot 100} = 19,780 \text{ г}$$

Расчет необходимого количества пропиленгликоля на одну серию:

$$M_{(\text{ПГ})} = \frac{190 \cdot 2000}{1000} = 380 \text{ г}$$

$$M_{(\text{ПГ}) \text{ техн}} = \frac{380 \cdot 10000}{99,98 \cdot (100 - 0,11)} = 380,495 \text{ г}$$

Расчет необходимого количества ампул на серию проводился по формуле (3):

$$K_a = \frac{V_{\text{р-ра}}}{V_a}, \quad (3)$$

где  $V_a$  – объем наполнения ампул, мл.

Согласно фармакопейной статье [13] объем наполнения ампул (с номинальным объемом 10 мл) вязким раствором составляет 10,7 мл, но ввиду технических особенностей дозирующей системы ближайшим устанавливаемым значением целевого объема наполнения является 10,8 мл ( $V_a$ ). Такой объем наполнения гарантирует извлечение содержимого из ампулы объемом раствора не менее 10 мл.

Количество необходимых ампул на серию:

$$K_a = \frac{2000}{10,8} = 186 \text{ ампул}$$

### 2.5.3 Методика проведения экспериментов

Методика приготовления растворов аналогична методике, описанной в пункте 2.1.1.3. Однако для растворов, приготовленных с использованием азота (газовой защиты), вводятся дополнительные стадии: барботирование ВДИ азотом, измерение остаточного содержания кислорода и дополнительное барботирование азотом готового раствора перед фильтрацией. Также стадия фильтрации раствора происходит непосредственно перед наполнением и запайкой ампул.

- 1) Барботирование ВДИ азотом.

В емкость с набранной ВДИ помещают трубку, через которую будет подаваться азот. На магнитной мешалке выставляют скорость 100 об/мин и открывают кран подачи азота. С помощью крана подачи азота регулируют его скорость подачи. Кран оставляют в положении, при котором азот будет подаваться равномерно и будет отсутствовать разбрызгивание раствора. Процесс барботирования ВДИ азотом проводят в течение 10 минут.

#### 2) Измерение остаточного содержания кислорода (ОСК).

В ВДИ помещают датчик анализатора кислорода и проводят измерение ОСК. Значение ОСК в ВДИ после барботирования азотом должно составлять не более 1,5 мг/л. В случае, если значение ОСК больше целевого значения, то проводят дополнительное барботирование ВДИ в течение 5 минут.

3) Дополнительное барботирование азотом готового раствора перед фильтрацией.

Данную стадию проводят по окончании приготовления раствора до стадии фильтрации по аналогии с барботированием ВДИ азотом, но в течение 5 минут.

По окончании приготовления растворов (после охлаждения) измеряют плотность раствора с помощью подходящего ареометра.

Методика наполнения, запайки и стерилизации ампул при производстве растворов кальция глюконата различными технологиями приведена в приложении Б.

### **2.5.4 Карты опытов**

#### Вариант № 1.

Карта опыта по приготовлению раствора, наполнению, запайке и стерилизации ампул по варианту № 1 представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Карта опыта по варианту № 1

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Стадия приготовления раствора		
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	800 мл 20 °С 400 об/мин	pH начальный 5,61
Барботирование азотом	10 мин	–
Измерение ОСК	не более 1,5 мг/л	0,87 мг/л
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 20 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	380,495 г 60 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Нагрев раствора	до 105 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	200,884 г 100 мл 60 мин	Раствор стал прозрачным через 50 минут
Охлаждение раствора	до 35 °С	Кристаллов не обнаружено
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Перемешивание	до pH = 9,8 – 10,2 30 мин	pH <sub>нач</sub> = 4,31 (+ 200 мл) → pH = 10,18 –
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 10 мл 5 мин	Раствор в течение 20 секунд перемешивания стал однородным
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Доведение объема раствора	до pH = 6,6 – 7,3 до 2000 мл	pH <sub>нач</sub> = 4,61 (+ 40 мл) → pH = 6,95 pH конечный 6,95
Нагрев раствора Перемешивание	до 105 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Охлаждение раствора	до 20 °С	$\rho = 1,080 \text{ г/см}^3$
Барботирование азотом	5 мин	–
Стадия наполнения и запайки ампул		
Фильтрация раствора через фильтры	фильтры PES с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм	Кристаллов не обнаружено
Продувка ампул азотом	5 сек	Получено: 176 ампул с качественной запайкой 5 ампул с некачественной запайкой
Наполнение ампул	объем наполнения 10,8 мл	
Продувка ампул азотом	5 сек	
Запайка ампул	ампулы должны быть без повреждений и дефектов	
Стадия стерилизации ампул		
Стерилизация ампул	Выдержка температуры 121–124 °С в течение 8 мин	Без отклонений

## Вариант № 2.

Карта опыта по приготовлению раствора, наполнению, запайке и стерилизации ампул по варианту № 2 представлена в таблице 12:

Таблица 12 – Карта опыта по варианту № 2

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Стадия приготовления раствора		
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	800 мл 20 °С 400 об/мин	pH начальный 5,58
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 20 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	380,495 г 60 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Нагрев раствора	до 105 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	200,884 г 100 мл 60 мин	Раствор стал прозрачным через 50 минут
Охлаждение раствора	до 35 °С	Кристаллов не обнаружено
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Перемешивание	до pH = 9,8 – 10,2 30 мин	pH <sub>нач</sub> = 4,35 (+ 200 мл) → pH = 10,20 –
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 10 мл 5 мин	Раствор в течение 20 секунд перемешивания стал однородным
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Доведение объема раствора	до pH = 6,6 – 7,3 до 2000 мл	pH <sub>нач</sub> = 4,55 (+ 41 мл) → pH = 7,01 pH конечный 7,02
Нагрев раствора Перемешивание	до 105 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Охлаждение раствора	до 20 °С	$\rho = 1,080 \text{ г/см}^3$
Стадия наполнения и запайки ампул		
Фильтрация раствора через фильтры	фильтры PES с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм	Кристаллов не обнаружено
Наполнение ампул Запайка ампул	объем наполнения 10,8 мл ампулы в месте запайки должны быть без повреждений и дефектов	Получено: 178 ампул с качественной запайкой 3 ампул с некачественной запайкой
Стадия стерилизации ампул		
Стерилизация ампул	Выдержка температуры 121–124 °С в течение 8 мин	Без отклонений

### Вариант № 3.

Карта опыта по приготовлению раствора, наполнению, запайке и стерилизации ампул по варианту № 3 представлена в таблице 13:

Таблица 13 – Карта опыта по варианту № 3

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Стадия приготовления раствора		
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	800 мл 20 °С 400 об/мин	pH начальный 5,66
Барботирование азотом	10 мин	–
Измерение ОСК	не более 1,5 мг/л	0,57 мг/л
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 20 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	380,495 г 60 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Нагрев раствора	до 105 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	200,884 г 100 мл 60 мин	Раствор стал прозрачным через 50 минут
Охлаждение раствора	до 35 °С	Кристаллов не обнаружено
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Перемешивание	до pH = 9,8 – 10,2 30 мин	pH <sub>нач</sub> = 4,28 (+ 200 мл) → pH = 10,07 –
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 10 мл 5 мин	Раствор в течение 20 секунд перемешивания стал однородным
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Доведение объема раствора	до pH = 6,6 – 7,3 до 2000 мл	pH <sub>нач</sub> = 4,61 (+ 40 мл) → pH = 6,98 pH конечный 6,98
Нагрев раствора Перемешивание	до 105 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Охлаждение раствора	до 20 °С	$\rho = 1,081 \text{ г/см}^3$
Барботирование азотом	5 мин	–
Стадия наполнения и запайки ампул		
Фильтрация раствора через фильтры	фильтры PES с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм	Кристаллов не обнаружено
Продувка ампул азотом	5 сек	Получено: 175 ампул с качественной запайкой 6 ампул с некачественной запайкой
Наполнение ампул	объем наполнения 10,8 мл	
Продувка ампул азотом	5 сек	
Запайка ампул	ампулы в месте запайки должны быть без повреждений и дефектов	
Стадия стерилизации ампул		
Стерилизация ампул	Выдержка температуры 105–108 °С в течение 30 мин	Без отклонений

Вариант № 4.

Карта опыта по приготовлению раствора, наполнению, запайке и стерилизации ампул по варианту № 4 представлена в таблице 14.

Таблица 14 – Карта опыта по варианту № 4

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Стадия приготовления раствора		
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	800 мл 20 °С 400 об/мин	рН начальный 5,68
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 20 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	380,495 г 60 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Нагрев раствора	до 105 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	200,884 г 100 мл 60 мин	Раствор стал прозрачным через 50 минут
Охлаждение раствора	до 35 °С	Кристаллов не обнаружено
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Перемешивание	до рН = 9,8 – 10,2 30 мин	рН <sub>нач</sub> = 4,33 (+ 200 мл) → рН = 10,10 –
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 10 мл 5 мин	Раствор в течение 20 секунд перемешивания стал однородным
Добавление 1М раствора натрия гидроксида	до рН = 6,6 – 7,3	рН <sub>нач</sub> = 4,61 (+ 41 мл) → рН = 6,95
Доведение объема раствора	до 2000 мл	рН конечный 6,96
Нагрев раствора Перемешивание	до 105 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Охлаждение раствора	до 20 °С	$\rho = 1,080 \text{ г/см}^3$
Стадия наполнения и запайки ампул		
Фильтрация раствора через фильтры	фильтры PES с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм	Кристаллов не обнаружено
Наполнение ампул Запайка ампул	объем наполнения 10,8 мл ампулы в месте запайки должны быть без повреждений и дефектов	Получено: 178 ампул с качественной запайкой 3 ампул с некачественной запайкой
Стадия стерилизации ампул		
Стерилизация ампул	Выдержка температуры 105–108 °С в течение 30 мин	Без отклонений

Вариант № 5.

Карта опыта по приготовлению раствора, наполнению и запайке ампул по варианту № 5 представлена в таблице 15:

Таблица 15 – Карта опыта по варианту № 5

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Стадия приготовления раствора		
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	800 мл 20 °С 400 об/мин	pH начальный 5,70
Барботирование азотом	10 мин	–
Измерение ОСК	не более 1,5 мг/л	0,66 мг/л
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 20 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	380,495 г 60 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Нагрев раствора	до 105 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	200,884 г 100 мл 60 мин	Раствор стал прозрачным через 50 минут
Охлаждение раствора	до 35 °С	Кристаллов не обнаружено
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Перемешивание	до pH = 9,8 – 10,2 30 мин	pH <sub>нач</sub> = 4,30 (+ 200 мл) → pH = 10,07 –
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 10 мл 5 мин	Раствор в течение 20 секунд перемешивания стал однородным
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Доведение объема раствора	до pH = 6,6 – 7,3 до 2000 мл	pH <sub>нач</sub> = 4,65 (+ 40 мл) → pH = 6,95 pH конечный 6,96
Нагрев раствора Перемешивание	до 105 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Охлаждение раствора	до 20 °С	$\rho = 1,080 \text{ г/см}^3$
Барботирование азотом	5 мин	–
Стадия наполнения и запайки ампул		
Фильтрация раствора через фильтры	фильтры PES с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм	Кристаллов не обнаружено
Продувка ампул азотом	5 сек	Получено: 176 ампул с качественной запайкой 5 ампул с некачественной запайкой
Наполнение ампул	объем наполнения 10,8 мл	
Продувка ампул азотом	5 сек	
Запайка ампул	ампулы в месте запайки должны быть без повреждений и дефектов	



## Вариант № 6.

Карта опыта по приготовлению раствора, наполнению и запайке ампул по варианту № 6 представлена в таблице 16:

Таблица 16 – Карта опыта по варианту № 6

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Стадия приготовления раствора		
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	800 мл 20 °С 400 об/мин	pH начальный 5,67
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 20 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	380,495 г 60 мл 5 мин	Раствор в течение 25 секунд перемешивания стал однородным
Нагрев раствора	до 105 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	200,884 г 100 мл 60 мин	Раствор стал прозрачным через 50 минут
Охлаждение раствора	до 35 °С	Кристаллов не обнаружено
Добавление 1М раствора натрия гидроксида Перемешивание	до pH = 9,8 – 10,2 30 мин	pH <sub>нач</sub> = 4,35 (+ 200 мл) → pH = 10,03 –
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	9,89 г 10 мл 5 мин	Раствор в течение 20 секунд перемешивания стал однородным
Добавление 1М раствора натрия гидроксида	до pH = 6,6 – 7,3	pH <sub>нач</sub> = 4,70 (+ 40 мл) → pH = 7,05
Доведение объема раствора	до 2000 мл	pH конечный 7,04
Нагрев раствора Перемешивание	до 105 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Охлаждение раствора	до 20 °С	$\rho = 1,079 \text{ г/см}^3$
Стадия наполнения и запайки ампул		
Фильтрация раствора через фильтры	фильтры PES с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм	Кристаллов не обнаружено
Наполнение ампул Запайка ампул	объем наполнения 10,8 мл ампулы в месте запайки должны быть без повреждений и дефектов	Получено: 178 ампул с качественной запайкой 3 ампул с некачественной запайкой

### 2.5.5 Исследование стабильности образцов ампул

Часть полученных ампул (кроме ампул для анализа в первую временную точку исследований) заложили в термостат Binder BD 115 для

исследования стабильности раствора при ускоренном старении при температуре  $40 \pm 2$  °С и при относительной влажности  $75 \pm 5$  %.

Далее, согласно временным точкам исследования, проводят физико-химический анализ раствора в ампулах по следующим показателям: описание, подлинность, рН, механические включения, количественное определение. Ниже приведены способы определения данных показателей и требования к данным показателям.

Описание: определение проводится визуальным методом. Раствор должен быть бесцветной, прозрачной жидкостью.

Цветность раствора определяется согласно фармакопейной статье [12]. Испытания проводят в одинаковых пробирках из бесцветного прозрачного стекла, используя равные объемы – 2 мл исследуемого раствора и очищенной воды. Сравнивают цветность раствора при рассеянном дневном свете, перпендикулярно положению исследуемых пробирок на матово-белом фоне. Окраска раствора не должна отличаться от окраски очищенной воды.

Прозрачность раствора определяется согласно фармакопейной статье [12]. Испытания проводят в одинаковых пробирках из бесцветного прозрачного стекла, используя равные объемы – 10 мл исследуемого раствора и очищенной воды. Сравнивают прозрачность раствора при освещении электрической лампой матового стекла мощностью 40 Вт, расположенной над образцом исследуемой жидкости. Образцы просматривают перпендикулярно положению пробирок на черном фоне. Прозрачность раствора не должна отличаться от прозрачности очищенной воды.

Подлинность: в 10 мл испытуемого раствора добавляют 40 мл очищенной воды, раствор перемешивают. В полученный раствор добавляют 0,3 мл 3%-ного раствора хлорида железа (III). Раствор должен приобрести светло-зеленое окрашивание (реакция на глюконовую кислоту).

2 мл раствора смешивают с 8 мл воды очищенной. Из полученного раствора отбирают 1 мл и смешивают его с 1 мл 4%-ного раствора оксалата

аммония. По итогу реакции должен образоваться белый осадок, нерастворимый в 30%-ной уксусной кислоте и 10%-ном растворе аммиака и растворимый в разведенных органических кислотах (характерная реакция на кальций [12]).

Показатель рН: измерение показателя рН производят с помощью рН-метра с чувствительностью не менее 0,05 единиц или 3 мВ [12]. В чистый стеклянный стаканчик объемом 100 мл переливают 50 мл исследуемого раствора. В стаканчик опускают датчик рН-метра и измеряют показатель рН. Значения показателя рН должны быть в пределах от 6,0 до 7,5.

Данный показатель отличается от первоначального целевого показателя рН при приготовлении раствора (от 6,6 до 7,3) в связи с возможными изменениями данного показателя в процессе хранения. Для достижения положительных результатов анализа растворов по показателю рН на протяжении всего срока хранения, первоначальные границы показателя рН были более узкими.

Механические включения: исследование раствора на наличие видимых механических включений проводят визуально в соответствии с фармакопейной статьей [13]. Прибор для контроля растворов на видимые механические включения представляет собой корпус в сборе с экраном (со стеклами и светодиодными лампами – белый фон) и выносной рамкой (перед экраном) с поляризационным стеклом (черный фон). При проведении исследования ампулы берут за капилляры, вносят их в зону контроля положением «вверх дном» и просматривают поочередно на черном и белом фонах. Затем плавным движением (без встряхивания) переводят ампулы в положение «вниз дном» и снова просматривают на черном и белом фонах. Просматривают 100 % исследуемых ампул, в растворе должны отсутствовать механические включения – посторонние подвижные нерастворимые частицы (кроме пузырьков газа).

Количественное определение: определение параметра проводят методом титриметрии.

0,5 г хромового темно-синего растворяют в 10 мл аммония хлорида буферного раствора (рН 10,0) и доводят общий объем раствора этанолом 95%-ным до 100 мл.

К 4 мл исследуемого раствора добавляют 16 мл воды очищенной. К полученному раствору прибавляют 10 мл аммония хлорида буферного раствора (рН 10,0) и титруют 0,05 М раствором натрия эдетата до сине-фиолетового окрашивания (индикатор – 0,5 мл раствора хромового темно-синего).

1 мл 0,05 М раствора натрия эдетата соответствует 0,02242 г кальция глюконата моногидрата, которого в 1 мл препарата должно быть от 0,097 г до 0,103 г.

#### **2.5.6 Результаты исследования стабильности**

В связи с временными ограничениями научно-исследовательской работы были проведены исследования стабильности растворов только по первым четырем временным точкам (из пяти точек). Однако этих данных достаточно для отслеживания тенденции поведения физико-химических показателей растворов в процессе хранения. Результаты исследования стабильности растворов кальция глюконата методом ускоренного старения при 40 °С (первые четыре временные точки исследования) представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты анализов растворов кальция глюконата в процессе хранения при температуре 40 °С

Вариант	Технология	Показатели	Временная точка 1 (сразу после окончания производства)	Временная точка 2 (через 1 месяц хранения, соответствует 4 месяцам естественного хранения)	Временная точка 3 (через 2 месяца хранения, соответствует 8 месяцам естественного хранения)	Временная точка 4 (через 3 месяца хранения, соответствует 12 месяцам естественного хранения)
1	Режим стерилизации 121 °С 8 мин, с азотом	Описание	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		Подлинность	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		рН	6,95	6,89	6,85	6,81
		Количественное определение	0,101 г/мл	0,101 г/мл	0,100 г/мл	0,100 г/мл
		Механические включения	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют
2	Режим стерилизации 121 °С 8 мин, без азота	Описание	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		Подлинность	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		рН	7,00	6,97	6,92	6,88
		Количественное определение	0,100 г/мл	0,100 г/мл	0,100 г/мл	0,099 г/мл
		Механические включения	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют
3	Режим стерилизации 105 °С 30 мин, с азотом	Описание	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		Подлинность	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		рН	6,98	6,90	6,84	6,79
		Количественное определение	0,100 г/мл	0,100 г/мл	0,099 г/мл	0,099 г/мл
		Механические включения	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют
4	Режим стерилизации 105 °С 30 мин, без азота	Описание	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		Подлинность	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
		рН	6,97	6,91	6,83	6,77
		Количественное определение	0,101 г/мл	0,100 г/мл	0,100 г/мл	0,100 г/мл
		Механические включения	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют

Продолжение таблицы 17

Вариант	Технология	Показатели	Временная точка 1 (сразу после окончания производства)	Временная точка 2 (через 1 месяц хранения, соответствует 4 месяцам естественного хранения)	Временная точка 3 (через 2 месяца хранения, соответствует 8 месяцам естественного хранения)	Временная точка 4 (через 3 месяца хранения, соответствует 12 месяцам естественного хранения)
5	Асептика, с азотом	Описание	Соответствует	В ампулах обнаружены кристаллы, дальнейшие исследования не проводились		
		Подлинность	Соответствует			
		pH	6,95			
		Количественное определение	0,098 г/мл			
		Механические включения	Отсутствуют			
6	Асептика, без азота	Описание	Соответствует	В ампулах обнаружены кристаллы, дальнейшие исследования не проводились		
		Подлинность	Соответствует			
		pH	7,03			
		Количественное определение	0,098 г/мл			
		Механические включения	Отсутствуют			

Согласно полученным данным в ходе исследований, промышленное производство лекарственного препарата «Кальция глюконат» (с обновленным составом) асептическим методом (вариант 5 и 6) не представляется возможным в связи с образованием кристаллов в растворе в процессе хранения. Технологии производства лекарственного препарата с финишной стерилизацией (варианты 1, 2, 3 и 4) показали положительные результаты исследования. Для производства валидационной серии лекарственного препарата «Кальция глюконат» была выбрана технология производства под вариантом 2. Режим финишной стерилизации паром при температуре 121 °С в течение 8 минут рекомендуется государственной фармакопеей РФ, а отсутствие азота при производстве лекарственного препарата снизит излишние экономические и ресурсные затраты.

## **2.6 Производство валидационной серии кальция глюконата**

### **2.6.1 Выбор сырья для производства валидационной серии**

#### **1) Кальция глюконат.**

Производитель: «Чжэцзян Жуйбан Лабораториз» (Китай), номер серии производителя: 0122070. В соответствии с требованиями европейской фармакопеи [34] сырье представляет собой белый зернистый порошок, показатель «Количественное определение» составляет 100,0 %, показатель «Потеря в массе при высушивании» составляет 0,16 %.

#### **2) Молочная кислота.**

Производитель: «Хенан Джиндан Лактик Эсид Технолоджи Ко., Лтд.» (Китай), номер серии производителя: L2112282445. В соответствии с требованиями европейской фармакопеи [34] сырье представляет собой светло-желтую сиропообразную жидкость, показатель «Количественное определение» составляет 91,0 %, при пересчете на 100 % молочной кислоты данный показатель составляет 101,11 %.

#### **3) Пропиленгликоль.**

Производитель: «СКПикглобал, Со., Лтд.» (Южная Корея), номер серии производителя: E12194UP. В соответствии с требованиями фармакопеи США [34] сырье представляет собой вязкую, прозрачную, бесцветную гигроскопическую жидкость, показатель «Количественное определение» составляет 99,9 %, показатель «Вода» составляет 0,16 %.

#### 4) Натрия гидроксид.

Производитель: АО «БСК» (Россия), номер серии производителя: 1180. В соответствии с требованиями нормативной документации [10] сырье представляет собой расплывающуюся кристаллическую массу в виде пластинок, показатель «Количественное определение» составляет 100,4 %.

#### 5) Вода для инъекций.

Производитель: ООО «Озон» (Россия). Вода для инъекций произведена из воды питьевой с помощью многоступенчатой очистки на установке водоподготовки, вода соответствует требованиям государственной фармакопеи РФ [14].

### **2.6.2 Выбор упаковочных материалов (ампул) для производства валидационной серии**

В качестве первичного упаковочного материала для раствора лекарственного препарата были выбраны ампулы производителя ООО «Клин-фармаглас» (Россия). Ампулы типа В (усеченная ампула с пережимом) изготовлены из бесцветного стекла марки НК первого гидролитического класса в соответствии с нормативной документацией [29], производитель стекла (сырья) FIOLAX SCHOTT AG Germany (Германия). На ампулы нанесены насечки и цветные (белые) точки излома. Вместимость ампул не менее 11,0 мл.

### **2.6.3 Технологическая схема производства валидационной серии**

Для изучения поведения обновленного состава раствора кальция глюконата в промышленных условиях необходимо провести две технологические стадии производства лекарственного препарата:



«Приготовление и фильтрация раствора» и «Наполнение, запайка и стерилизация ампул».

Стадия «Приготовление и фильтрация раствора» состоит из двух операций: «Приготовление раствора» и «Стерилизующая фильтрация раствора». Стадия «Наполнение, запайка и стерилизация ампул» также состоит из двух операций: «Наполнение и запайка ампул» и «Термическая стерилизация ампул».

Операция «Приготовление раствора» включает в себя подготовку воды для инъекций из воды питьевой на установке водоподготовки, подготовку (развешивание) АФС (активной фармацевтической субстанции: кальция глюконата) и ВВ (вспомогательных веществ: молочной кислоты, пропиленгликоля и натрия гидроксида (в виде 1М водного раствора)). Операция «Наполнение и запайка ампул» также включает в себя мойку и стерилизацию пустых ампул.

Технологическая схема производства валидационной серии представлена на рисунке 12.



Рисунок 12 – Технологическая схема производства валидационной серии

Все технологические операции производства валидационной серии велись на промышленном оборудовании, описание которого приведено в приложении В.

#### **2.6.4 Составление норм расхода сырья и упаковочных материалов**

Для составления норм расхода сырья на серию исходными данными являются: номинальное содержание веществ в 1 мл раствора ( $C_{в-ва}$ , из таблицы 10), объем наполнения ампул ( $V_a = 10,7$  мл), объем раствора серии и плотность раствора кальция глюконата из ( $\rho = 1,080$  г/см<sup>3</sup> = 1080 мг/см<sup>3</sup>).

Объем раствора валидационной серии (далее по тексту – объем серии) выбирается на основании загрузки реактора, в котором будет готовиться раствор, на 80 % от максимального рабочего объема. Реактор для приготовления растворов РСBS 1500 LT имеет рабочий объем в 1500 л, следовательно, объем серии примем равным 1200 л ( $V_{p-ра}$ ).

##### 1) Расчет содержания натрия гидроксида в 1 мл раствора.

В связи с ненормированным содержанием данного вещества в растворе за основу было взято количество потраченного 1М раствора натрия при приготовлении раствора кальция глюконата по варианту 2 (таблица 12). На раствор кальция глюконата объемом 2000 мл было затрачено 241 мл 1М раствора натрия гидроксида. В 1000 мл 1М раствора натрия гидроксида содержится 40000 мг натрия гидроксида, следовательно, в 241 мл раствора содержится:

$$M_{НГ} = \frac{241 \cdot 40000}{1000} = 9640 \text{ мг}$$

Отсюда находим содержание натрия гидроксида в 1 мл раствора кальция глюконата (варианта 2):

$$C_{НГ} = \frac{9640 \cdot 1}{2000} = 4,82 \text{ мг/мл}$$

2) Расчет содержания воды для инъекций в 1 мл раствора.

Согласно плотности раствора, масса 1 мл раствора кальция глюконата составляет 1080 мг. Содержание воды для инъекций в 1 мл раствора кальция глюконата находится путем вычета из массы раствора остальных компонентов (кальция глюконата, молочной кислоты, пропиленгликоля, натрия гидроксида):

$$C_{\text{вди}} = 1080 - 100 - 10 - 190 - 4,82 = 775,18 \text{ мг/мл}$$

3) Расчет массовой доли компонентов раствора на 1 мл препарата.

Массовая доля кальция глюконата в 1 мл раствора:

$$\omega_{\text{КГ}} = \frac{100 \cdot 100}{1080} = 9,259\%$$

Массовая доля молочной кислоты в 1 мл раствора:

$$\omega_{\text{МК}} = \frac{10 \cdot 100}{1080} = 0,926\%$$

Массовая доля пропиленгликоля в 1 мл раствора:

$$\omega_{\text{ПГ}} = \frac{190 \cdot 100}{1080} = 17,593\%$$

Массовая доля натрия гидроксида в 1 мл раствора:

$$\omega_{\text{НГ}} = \frac{4,82 \cdot 100}{1080} = 0,446\%$$

Массовая доля воды для инъекций в 1 мл раствора:

$$\omega_{\text{ВДИ}} = \frac{775,18 \cdot 100}{1080} = 71,776\%$$

4) Расчет содержания веществ в 1 ампуле с лекарственным препаратом.

Расчет содержания конкретного вещества в одной ампуле ( $X_{\text{в-ва}}$ , мг) ведется по формуле (4):

$$X_{\text{в-ва}} = C_{\text{в-ва}} \cdot V_{\text{а}} \quad (4)$$

Содержание кальция глюконата в 1 ампуле с лекарственным препаратом:

$$X_{\text{КГ}} = 100 \cdot 10,7 = 1070 \text{ мг}$$

Содержание молочной кислоты в 1 ампуле с лекарственным препаратом:

$$X_{\text{МК}} = 10 \cdot 10,7 = 107 \text{ мг}$$

Содержание пропиленгликоля в 1 ампуле с лекарственным препаратом:

$$X_{\text{ПГ}} = 190 \cdot 10,7 = 2033 \text{ мг}$$

Содержание натрия гидроксида в 1 ампуле с лекарственным препаратом:

$$X_{\text{НГ}} = 4,82 \cdot 10,7 = 51,574 \text{ мг}$$

Содержание воды для инъекций в 1 ампуле с лекарственным препаратом:

$$X_{ВДИ} = 775,18 \cdot 10,7 = 8294,426 \text{ мг}$$

Рассчитаем массу раствора в одной ампуле ( $M_{р-ра(A)}$ ), умножив объем наполнения ампулы ( $V_a$ ) на плотность раствора ( $\rho$ ):

$$M_{р-ра(A)} = 10,7 \cdot 1080 = 11556 \text{ мг}$$

5) Расход сырья на серию.

Расчет сырья (со 100%-ным содержанием вещества) на серию ведется по формуле (1) (из пункта 2.1.1.2).

Расход кальция глюконата (со 100%-ным содержанием вещества) на серию:

$$M_{КГ(100\%)} = \frac{100 \cdot 1200}{1000} = 120,0 \text{ кг}$$

Расход молочной кислоты (со 100%-ным содержанием вещества) на серию:

$$M_{МК(100\%)} = \frac{10 \cdot 1200}{1000} = 12,0 \text{ кг}$$

Расход пропиленгликоля (со 100%-ным содержанием вещества) на серию:

$$M_{ПГ(100\%)} = \frac{190 \cdot 1200}{1000} = 228,0 \text{ кг}$$

Расход натрия гидроксида (со 100%-ным содержанием вещества) на серию:

$$M_{\text{НГ}(100\%)} = \frac{4,82 \cdot 1200}{1000} = 5,784 \text{ кг}$$

Для определения расхода воды для инъекций на серию необходимо рассчитать массу раствора ( $M_{\text{р-ра}}$ ) на серию путем умножения объема серии ( $V_{\text{р-ра}}$ ) на плотность раствора ( $\rho$ ):

$$M_{\text{р-ра}} = 1200 \cdot 1,080 = 1296,0 \text{ кг}$$

Расход воды для инъекций на серию:

$$M_{\text{ВДИ}(100\%)} = 1296,0 - 120,0 - 12,0 - 228,0 - 5,784 = 930,216 \text{ кг}$$

Для того чтобы в готовом растворе содержались вещества с концентрацией близкой к номинальной, сырье пересчитывают с учетом таких показателей как «Количественное определение» (КО) и «Потеря в массе при высушивании» или «Вода» (Вл). Для норм расхода обычно рассчитывают сырье с учетом «наихудшего случая» данных показателей. Для показателя «Количественное определение» «наихудшим случаем» является нижняя граница допустимых значений, а для показателей «Потеря в массе при высушивании» или «Вода», наоборот, верхняя граница допустимых значений. Границы допустимых значений данных параметров для конкретного сырья прописаны в соответствующей нормативной документации (государственная фармакопея РФ, европейская фармакопея, фармакопея США и так далее), относящейся к сырью.

Для кальция глюконата показатель «Количественное определение» нормируется в пределах от 99,0 % до 101,0 %, показатель «Потеря в массе при высушивании» должен быть не более 1,0 %. Для молочной кислоты показатель «Количественное определение» нормируется в пределах от 88,0 % до 92,0 %, при пересчете на 100 % молочной кислоты данный показатель

должен составлять от 97,78 % до 102,22 %, другие показатели для данного вещества не нормируются. Для пропиленгликоля показатель «Количественное определение» должен составлять не менее 99,5 %, а показатель «Вода» должен быть не более 0,2 %. Для натрия гидроксида данные показатели не нормируются, так как данное вещество используется как щелочной агент для изменения рН раствора. Для ВДИ данные показатели тоже не учитываются, так как вода является основным компонентом большинства инъекционных растворов и используется в качестве растворителя.

Для удобного пересчета необходимого сырья используют коэффициент пересчета ( $K_{в-ва}$ ), который определяется по формуле (5):

$$K_{в-ва} = \frac{10000}{КО \cdot (100 - Вл)}. \quad (5)$$

Коэффициент пересчета для кальция глюконата:

$$K_{кг} = \frac{10000}{99,0 \cdot (100 - 1,0)} = 1,0203$$

Коэффициент пересчета для молочной кислоты:

$$K_{МК} = \frac{10000}{97,78 \cdot (100 - 0)} = 1,0227$$

Коэффициент пересчета для пропиленгликоля:

$$K_{ПГ} = \frac{10000}{99,5 \cdot (100 - 0,2)} = 1,0070$$

С учетом возможного перерасхода натрия гидроксида на валидационную серию, коэффициент пересчета для натрия гидроксида ( $K_{\text{НГ}}$ ) принимают равным 1,01.

Для ВДИ коэффициент пересчета не используется, так как норма расхода ВДИ на серию высчитывается путем вычета из массы раствора всех оставшихся компонентов.

Расход кальция глюконата на серию с учетом коэффициента пересчета:

$$M_{\text{КГ}} = 120,0 \cdot 1,0203 = 122,436 \text{ кг}$$

Расход молочной кислоты на серию с учетом коэффициента пересчета:

$$M_{\text{МК}} = 12,0 \cdot 1,0227 = 12,272 \text{ кг}$$

Расход пропиленгликоля на серию с учетом коэффициента пересчета:

$$M_{\text{ПГ}} = 228,0 \cdot 1,007 = 229,596 \text{ кг}$$

Расход натрия гидроксида на серию с учетом коэффициента пересчета:

$$M_{\text{НГ}} = 5,784 \cdot 1,01 = 5,842 \text{ кг}$$

Расход воды для инъекций на серию с учетом пересчета остальных компонентов раствора:

$$M_{\text{ВДИ}} = 1296 - 122,436 - 12,272 - 229,596 - 5,842 = 925,854 \text{ кг}$$

Рассчитанные нормы расхода сырья представлена в таблице 18.



Таблица 18 – Нормы расхода сырья

Наименование вещества	Содержание вещества в 1 мл раствора		Содержание вещества в 1 ампуле	Расход сырья на серию	Расход сырья на серию с учетом коэффициента пересчета
	мг	%	мг	кг	кг
Кальция глюконат	100,0	9,26	1070,0	120,000	122,436
Молочная кислота	10,0	0,92	107,0	12,000	12,272
Пропиленгликоль	190,0	17,59	2033,0	228,000	229,596
Натрия гидроксид	4,82	0,45	51,574	5,784	5,842
Вода для инъекций	775,18	71,78	8294,426	930,216	925,854
Итого	1080,0	100	11556,0	1296,000	1296,000

Норма расхода ампул определяется путем деления массы раствора в серии ( $M_{p-ра}$ , кг) на массу раствора в одной ампуле ( $M_{p-ра(A)}$ , мг).

$$A = \frac{1296 \cdot 1000000}{11556} = 112149,53 \text{ шт} = 112150 \text{ шт}$$

Полученное количество ампул необходимо к выдаче на серию лекарственного препарата при промышленном производстве.

### 2.6.5 Составление материального баланса

Теоретический постадийный материальный баланс валидационной серии составляется на основании данных, полученных в ходе составления норм расхода сырья и упаковочных материалов на серию. Основными значениями для проведения расчетов выбираем массу раствора ( $M_{p-ра}$ ) равную 1296,0 кг и количество ампул на серию (A) равное 112150 штук.

Зададим процент потерь на стадии производства валидационной серии. На стадии «Приготовление и фильтрация раствора» потери обычно составляют не более 2 % от теоретического выхода серии. В этот процент входят: потери раствора при отборе репрезентативных проб для физико-

химического анализа, потери раствора при перекачке через трубопровод и системы фильтрации и проведении деаэрации системы розлива в начале процесса подачи раствора на следующую технологическую стадию (для удаления остаточной воды после очистки трубопроводов и систем фильтрации), потери раствора оставшиеся в трубопроводе и системах фильтрации по окончании раствора в реакторе (оставшееся количество раствора, которое невозможно выдавить из оборудования под действием давления сжатого воздуха). На стадии «Наполнение, запайка и стерилизация ампул» потери обычно составляют не более 3 % от выхода серии с предыдущей стадии. В этот процент входят: потери при настройке оборудования, потери при отборе ампул для проведения физико-химического анализа, потери при бое ампул в ходе производства серии, потери при производстве ампул с дефектами (некачественная запайка ампул, «пригар» на кончике ампул), потери при проведении внутрипроизводственного контроля качества наполненных и запаянных ампул.

Теоретический выход по серии и выход по серии с учетом потерь приведены в таблице 19.

Таблица 19 – Выход по количеству раствора и ампул с раствором по серии

Стадия	Теоретический выход		Выход с учетом потерь		Потери		Выход со стадии, %	Процент потерь, %
	кг	шт	кг	шт	кг	шт		
Приготовление и фильтрация раствора	1296,0	-	1270,08	-	25,92	-	98,00	2
Наполнение, запайка и стерилизация ампул	1296,0	112150	1231,98	106610	38,10	5540	95,06	3

Учитывая выход со стадии и потери раствора, а также зная массовые доли каждого компонента раствора (из таблицы 18), составим материальный

баланс по стадиям. Материальный баланс по стадии «Приготовление и фильтрация раствора» приведен в таблице 20.

Таблица 20 – Материальный баланс по стадии «Приготовление и фильтрация раствора»

Приход		Расход	
Компонент	кг	Компонент	кг
Кальция глюконат	120,0	Раствор	1270,08
Молочная кислота	12,0	Потери раствора, в том числе	
Пропиленгликоль	228,0	Кальция глюконат	2,400
Натрия гидроксид	5,784	Молочная кислота	0,239
Вода для инъекций	930,216	Пропиленгликоль	4,559
-	-	Натрия гидроксид	0,117
-	-	Вода для инъекций	18,605
Итого	1296,0	Итого	1296,0

Зная массу раствора в одной ампуле (11556 мг или 11,556 г), рассчитаем, сколько ампул (А) с раствором можно получить при розливе 1270,08 кг раствора.

$$A = \frac{1270,08 \cdot 1000}{11,556} = 109906,54 \text{ шт} = 109907 \text{ шт}$$

Материальный баланс по стадии «Наполнение, запайка и стерилизация ампул» приведен в таблице 21.

Таблица 21 – Материальный баланс по стадии «Наполнение, запайка и стерилизация ампул»

Приход			Расход		
Компонент	кг	шт	Компонент	кг	шт
Ампулы	-	109907	Раствор в ампулах	1231,98	106610
Раствор в том числе			Потери раствора в ампулах в том числе		
Кальция глюконат	117,609	-	Кальция глюконат	3,528	-
Молочная кислота	11,685	-	Молочная кислота	0,351	-
Пропиленгликоль	223,407	-	Пропиленгликоль	6,702	-
Натрия гидроксид	5,715	-	Натрия гидроксид	0,171	-
Вода для инъекций	911,664	-	Вода для инъекций	27,348	-
-	-	-	Ампулы	-	3297
Итого	1270,08	109907	Итого	1270,08	109907

### 2.6.6 Расчет сырья для производства валидационной серии

Для производства валидационной серии ранее было выбрано сырье (пункт 3.2) с необходимыми параметрами для расчета («Количественное определение» (КО) и «Потеря в массе при высушивании» или «Вода» (Вл)). Расчет сырья проводился по двум формулам: по формуле (1) (из пункта 2.1.1.2) и по формуле (2) (из пункта 2.5.2). Расчет сырья для валидационной серии приведен в таблице 22.

Таблица 22 – Расчет сырья для производства валидационной серии

Наименование сырья	Количественное определение (КО), потеря в массе при высушивании/ вода (Вл)	Расчет сырья
Кальция глюконат	КО = 100,0 % Вл = 0,16 %	$M_{100\%} = \frac{100 \cdot 1200}{1000} = 120,0 \text{ кг}$ $M_{\text{тех}} = \frac{120 \cdot 10000}{100 \cdot (100 - 0,16)} = 120,192 \text{ кг}$
Молочная кислота	КО = 101,11 % Вл = 0 %	$M_{100\%} = \frac{10 \cdot 1200}{1000} = 12,0 \text{ кг}$ $M_{\text{тех}} = \frac{12 \cdot 10000}{101,11 \cdot (100 - 0)} = 11,868 \text{ кг}$

Продолжение таблицы 22

Наименование сырья	Количественное определение (КО), потеря в массе при высушивании/ вода (Вл)	Расчет сырья
Пропиленгликоль	КО = 99,9 % Вл = 0,16 %	$M_{100\%} = \frac{190 \cdot 1200}{1000} = 228,0 \text{ кг}$ $M_{\text{тех}} = \frac{228 \cdot 10000}{99,9 \cdot (100 - 0,16)} = 228,594 \text{ кг}$

Расчет необходимого количества 1М раствора натрия гидроксида на серию ведется исходя из норм расхода сырья.

Согласно норме расхода, на серию объемом 1200 л необходимо 5,784 кг натрия гидроксида. Для приготовления 1 л 1М раствора необходимо 0,040 кг натрия гидроксида, следовательно, для серии необходимо 144,6 л 1М раствора натрия гидроксида. Для удобства приготовления и подсчета было приготовлено 145 л 1М раствора натрия гидроксида (из 5,800 кг натрия гидроксида).

## 2.6.7 Производство валидационной серии

### 2.6.7.1 Развешивание сырья

Процесс развешивания сырья производился в помещении класса чистоты «С» на весах ВПА-50-1 (максимальный предел взвешивания 50,0 кг) и ВПМ-15.2-Ф (максимальный предел взвешивания 15,0 кг) в ведра из нержавеющей стали или путем взвешивания сырья в первичной упаковке (вычитав вес первичной упаковки – полиэтиленового мешка). Сыпучее сырье развешивалось с помощью совка из нержавеющей стали, жидкое сырье развешивалось методом перелива или с помощью мембранного насоса Tapflo.

Информация по количеству развешанного сырья для приготовления валидационной серии приведена в таблице 23.

Таблица 23 – Количество развешанного сырья

Наименование сырья	Количество сырья, кг		
	Техническое	Фактическое	
		Часть	Сумма частей
Молочная кислота	11,868	5,934	11,868
		5,934	
Пропиленгликоль	228,594	30,000	228,594
		30,000	
		30,000	
		30,000	
		30,000	
		30,000	
		20,118	
		28,476	
Кальция глюконат	120,192	4,582	120,192
		25,000	
		25,000	
		25,000	
		25,000	
		15,610	

### 2.6.7.2 Приготовление раствора

Процесс приготовления раствора производился в помещении класса чистоты «С» в реакторе для приготовления раствора PCBS 1500 LT. Первоначальная загрузка ВДИ, догрузка ВДИ в конце, скорость оборотов мешалки, нагрев раствора, охлаждение раствора и создание давления в реакторе сжатым воздухом осуществлялись с помощью панели управления реактором.

Ополаскивание загрузочного инвентаря (ведер из нержавеющей стали) осуществлялось с помощью отдельно набранной ВДИ. Объем необходимого количества 1М раствора натрия гидроксида мерили с помощью мерного цилиндра, загрузка отмеренного количества 1М раствора натрия гидроксида в реактор осуществлялась с помощью ведер из нержавеющей стали. Измерение pH раствора проводилось с помощью анализатора жидкости Seven Compact pH/Ion S220.

Процесс приготовления раствора валидационной серии приведен в таблице 24.

Таблица 24 – Процесс приготовления валидационной серии

Процесс	Параметр процесса	Примечание
Загрузка ВДИ Температура ВДИ Скорость перемешивания	700 л 40 °С 350 об/мин	pH начальный 5,85
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	5,934 кг 1 л 5 мин	По окончании перемешивания раствор однородный
Загрузка пропиленгликоля Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	228,594 кг 5 л 10 мин	По окончании перемешивания раствор однородный
Нагрев раствора	до 100 °С	–
Загрузка кальция глюконата Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	120,192 кг 5 л 60 мин	По окончании перемешивания раствор однородный
Охлаждение раствора	до 30 °С	–
Добавление 1М раствора натрия гидроксида	до pH = 9,8 – 10,2	pH <sub>нач</sub> = 4,41 (+ 120 л) → pH = 10,15
Перемешивание	30 мин	–
Загрузка молочной кислоты Ополаскивание тары ВДИ Перемешивание	5,934 кг 1 л 5 мин	По окончании перемешивания раствор однородный
Добавление 1М раствора натрия гидроксида	до pH = 6,6 – 7,3	pH <sub>нач</sub> = 4,68 (+ 23 л) → pH = 6,96
Доведение объема раствора	до 1200 л (80 л 85 °С)	pH конечный 6,98
Нагрев раствора Перемешивание	до 100 °С 15 мин	Раствор прозрачный
Перекачка раствора из реактора в реактор через систему предварительной фильтрации	через двухслойный мембранный фильтр из нейлона с размером пор 0,45 мкм + 0,22 мкм	–
Охлаждение раствора	до 25 °С	–
Создание давления в реакторе сжатым воздухом	0,3 бар	–
Отбор репрезентативной пробы № 1	250 мл	–
Перемешивание	15 мин	–
Отбор репрезентативной пробы № 2	250 мл	–

Раствор кальция глюконата по окончании приготовления оставался прозрачным, помутнение и выпадение кристаллов не наблюдалось. По окончании приготовления раствора были отобраны две репрезентативные пробы для физико-химического анализа по показателям «Описание», «Количественное определение», «pH» и «Плотность».

Отбор проб осуществлялся в баночку с винтовой крышкой из полимерного материала объемом 250 мл. Перед отбором репрезентативной пробы в баночку отбирали раствор кальция глюконата для ополаскивания внутренней поверхности баночки, затем раствор слили в заранее подготовленную (взвешенную) тару, процедура выполняли дважды. После ополаскивания в баночку отобрали репрезентативную пробу. На ополаскивание баночек было затрачено 0,432 кг раствора (П1). Результаты физико-химического анализа представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Результаты физико-химического анализа проб раствора кальция глюконата

Проба	Параметр	Нормативное значение	Результат
1	Описание	Бесцветная, прозрачная жидкость	Соответствует
	Количественное определение	В пределах от 97,0 мг до 103,0 мг кальция глюконата моногидрата в 1 мл препарата	100,10 мг/мл
	pH	В пределах от 6,0 до 7,5	7,03
	Плотность	Не нормируется	1,080 г/см <sup>3</sup>
2	Описание	Бесцветная, прозрачная жидкость	Соответствует
	Количественное определение	В пределах от 97,0 мг до 103,0 мг кальция глюконата моногидрата в 1 мл препарата	100,15 мг/мл
	pH	В пределах от 6,0 до 7,5	7,05
	Плотность	Не нормируется	1,080 г/см <sup>3</sup>

Массу раствора, затраченную на отбор проб, рассчитали путем умножения объема проб (0,5 л суммарно с двух проб) на плотность раствора (1,080 г/см<sup>3</sup>) и получили 0,540 кг раствора (П2).

### 2.6.7.3 Стерилизующая фильтрация раствора

Стерилизующая фильтрация раствора проводилась при перекачке раствора под давлением стерильного сжатого воздуха (от 0,1 до 1,0 бар) из реактора в накопительную емкость машины наполнения и запайки ампул через систему стерилизующей фильтрации.

Данный процесс производился в помещении класса чистоты «С», а также в локальной зоне класса чистоты «А», окруженной помещением класса



чистоты «В». Первые девять литров (примерно) раствора прошедшие стерилизующую фильтрацию были слиты, взвешены (9,880 кг (ПЗ)) и утилизированы.

На протяжении всего процесса стерилизующей фильтрации (от момента подачи раствора на машину наполнения и запайки ампул и до окончания процесса наполнения и запайки ампул) раствор в реакторе оставался прозрачным, помутнение, кристаллизация раствора и потери давления на стерилизующем фильтре не наблюдались.

Как было описано выше по окончании раствора в реакторе ввиду технических особенностей в трубопроводе и системах фильтрации остается часть раствора примерно равная девяти литрам. Умножив этот объем на плотность, получили 9,720 кг раствора (П4).

Потери на стадии «Приготовление и фильтрация раствора» находятся путем сложения всех потерь (П1, П2, П3 и П4), суммарные потери на стадии составили 20,572 кг раствора.

#### **2.6.7.4 Мойка и стерилизация пустых ампул**

Процесс мойки и стерилизации пустых ампул производился в машине мойки ампул RRU 3085 и стерилизационном туннеле HQL 3420 в помещении класса чистоты «D».

Исходя из теоретических норм расхода ампул, на серию потребуется не более 112150 пустых ампул, но ввиду того, что пустые ампулы поставляются кассетами (по 184 штуки в одной кассете), для проведения процесса наполнения и запайки ампул было выделено 112240 пустых ампул (610 кассет).

Перед началом процесса производства из числа пустых ампул были отобраны 10 штук для определения среднеарифметической массы одной пустой ампулы ( $M_{ПА, ср.}$ ).  $M_{ПА, ср.} = 6,22$  г. Так же для подсчета боя пустых ампул на стадии была подготовлена (взвешена) тара.

Все выделенные ампулы прошли процедуру очистки и стерилизации, но по окончании производства осталось 1618 пустых ампул. По окончании

процесса общая масса боя пустых ампул на оборудовании составила 1,81 кг (291 ампула (П5)).

Процесс мойки и стерилизации пустых ампул прошел без отклонений от критических технологических параметров (температура стерилизации выдерживалась в пределах от 295 до 305 °С в течение не менее 15 минут).

#### **2.6.7.5 Наполнение и запайка ампул**

Процесс наполнения и запайки ампул производился в машине наполнения и запайки ампул ALF 4080 в локальной зоне класса чистоты «А», окруженной помещением класса чистоты «В», с выгрузкой наполненных и запаянных ампул в помещение класса чистоты «D».

Перед началом основного процесса наполнения и запайки ампул (после поступления раствора (со стадии «Приготовление и фильтрация раствора») и пустых ампул в рабочую зону машины) производилась настройка оборудования: регулировка положения форматных частей оборудования (для оптимальной работы оборудования с ампулами форматом 10 мл), качество запайки ампул (для получения ампул без дефектов по качеству запайки), калибровка дозирующей системы (для получения наполненных раствором ампул с извлекаемым объемом не менее 10 мл).

На панели управления машиной наполнения и запайки ампул были выставлены параметры: целевой объем наполнения ампул (10,7 мл), плотность раствора (1,080 г/см<sup>3</sup>) и производительность оборудования в 100 % от максимальной (13200 ампул/ч).

Для того чтобы проверить, что дозирующая система машины наполняет ампулы раствором с извлекаемым объемом не менее 10 мл, измеряют массу (дозу) восьми ампул (так как машина оборудована восьмью насосами-дозаторами и за один такт наполняет восемь ампул).

Точность системы дозирования проверяется следующим образом: отбирают восемь наполненных и запаянных ампул, поочередно взвешивают их на аналитических весах, затем поочередно ломают кончик ампулы и извлекают все содержимое из ампулы, затем повторно поочередно

взвешивают пустые ампулы (вместе с кончиком) на аналитических весах, затем путем вычитания из массы ампулы наполненной массу пустой ампулы находят массу (дозу) раствора в каждой ампуле.

Для оценки точности наполнения ампул был задан диапазон допустимых значений массы (дозы) раствора в ампулах в диапазоне от 11,53 г до 11,58 г (от 10,68 мл до 10,72 мл) (показатель «Масса (доза) раствора»).

Для оценки качества работы станции запайки так же был задан диапазон допустимых значений по высоте запаянной ампулы от 86 мм до 88 мм. Высота запаянной ампулы измеряется штангенциркулем от основания ампулы до ее кончика (показатель «Высота запаянной ампулы»).

Так же были заданы требования к внешнему виду запаянной ампулы: ампула должна быть запаяна и заполнена раствором, ампула должна быть без механических повреждений, на кончике ампулы должны отсутствовать «пригар», пузыри и крючки (показатель «Внешний вид наполненной и запаянной ампулы»).

Все вышеперечисленные установленные показатели контролировались перед началом и периодически в процессе производства.

В случае массового несоответствия ампул по любому из показателей производилась настройка оборудования (в случае единичных случаев настройка оборудования не производилась), а ампулы несоответствующие установленным требованиям помещались в заранее подготовленную (взвешенную) тару для «Брака».

После настройки массы (дозы) раствора и высоты запайки ампул, с транспортного стола машины наполнения и запайки ампул были выгружены 15 кассет с пустыми ампулами (выгруженные ампулы были возвращены на машину мойки ампул) и был начат процесс наполнения и запайки ампул.

В процессе производства наполненные и запаянные ампулы, выходящие в зоне выгрузки машины наполнения и запайки ампул, помещались в перфорированные кассеты из нержавеющей стали по 189 штук

в каждой кассете. Наполненные кассеты помещались в корзину транспортной тележки парового стерилизатора.

Так как в камеру парового стерилизатора помещается не более 120 кассет из нержавеющей стали, вся серия была поделена на части кратные 120 кассетам. На производстве данные части серии называются технологическими сериями (ТС).

Каждая кассета маркировалась идентификационной карточкой с информацией о продукции (наименование раствора, номер кассеты и номер ТС). В начале производства с первой и пятой кассет отбираются ампулы, наполненные и запаянные (в количестве 15 ампул с каждой кассеты), для проведения физико-химического анализа по показателям «Количественное определение» и «рН». В случае, если результаты анализов ампул не соответствуют установленным нормативным значениям ампулы со всех пяти кассет помещают в тару для «Брака» и отбирают ампулы со следующих пяти кассет.

Результаты физико-химических анализов наполненных и запаянных ампул приведены в таблице 26.

Таблица 26 – Результаты физико-химического анализа наполненных и запаянных ампул

Кассета	Параметр	Нормативное значение	Результат
1	Количественное определение	В пределах от 97,0 мг до 103,0 мг кальция глюконата моногидрата в 1 мл препарата	98,70 мг/мл
	рН	В пределах от 6,0 до 7,5	6,98
5	Количественное определение	В пределах от 97,0 мг до 103,0 мг кальция глюконата моногидрата в 1 мл препарата	99,90 мг/мл
	рН	В пределах от 6,0 до 7,5	7,01

Согласно результатам физико-химического анализа, раствор в ампулах соответствует нормативным значениям, в связи с этим все ампулы наполненные и запаянные, начиная с первой кассеты, считаются «Годными».

В процессе производства помутнения и кристаллизации раствора в ампулах не наблюдалось, также отсутствовали проблемы с кристаллизацией раствора на движущихся частях оборудования, соприкасающихся с раствором кальция глюконата (насосы-дозаторы, иглы и шланги розлива).

При попадании раствора на капилляр ампулы и дальнейшей ее запайке на кончике запаянной ампулы наблюдался «пригар» (в связи с высокой концентрацией компонентов в растворе).

Для возможности расчета материального баланса по стадии были определены следующие параметры: средняя масса наполненной и запаянной ампулы ( $M_{НА, ср.}$ ), средняя масса пустой запаянной ампулы ( $M_{ПЗА, ср.}$ ) и средняя масса (доза) раствора в ампуле ( $M_{р, ср.}$ ).

Все эти параметры определялись как среднеарифметические значения за все проведенные измерения массы (дозы) раствора в процессе производства по методике, описанной выше. Результаты измерений:  $M_{НА, ср.} = 17,29$  г,  $M_{ПЗА, ср.} = 5,73$  г,  $M_{р, ср.} = 11,56$  г.

По окончании процесса производства было получено 108994 ампулы наполненные и запаянные.

Количество ампул с раствором, пошедших на настройку оборудования, составило 120 штук (1,388 кг раствора (П6)). Количество ампул с раствором, отобранных на физико-химический анализ, составило 30 штук (0,347 кг раствора (П7)).

Количество ампул с раствором, пошедших на измерение массы (дозы) раствора в процессе производства, составило 40 штук (0,463 кг раствора (П8)). Масса ампул с раствором, не соответствующих по показателю «Внешний вид наполненной и запаянной ампулы», составила 14,16 кг (819 штук ампул и 9,468 кг раствора (П9)).

Масса боя запаянных ампул (без раствора) составила 1,88 кг (это количество соответствует 328 штукам наполненных и запаянных ампул и, как следствие, 3,792 кг раствора (П10)).

#### **2.6.7.6 Термическая стерилизация ампул**

Процесс термической стерилизации осуществляется в паровом стерилизаторе Turbotherm SDT в помещении класса чистоты «D» и с зоной выгрузки в не классифицируемое контролируемое помещение.

После заполнения корзины тележки парового стерилизатора перфорированными кассетами из нержавеющей стали (60 кассет в одной корзине) с ампулами, наполненными и запаянными, тележку перемещают к загрузочной двери парового стерилизатора.

Затем корзину с кассетами помещают в камеру парового стерилизатора, после этого в кассеты помещают температурные датчики (в верхний, средний и нижний ряд с кассетами), после этого закрывают дверь стерилизатора и на панели управления выбирают соответствующий рецепт стерилизации.

Согласно выбранной технологии производства (вариант 2), ампулы, наполненные и запаянные, стерилизовали при режиме 121 °С в течение 8 минут. Для такого режима стерилизации допускается температура в пределах от 121 °С до 124 °С в течение 8 минут.

Весь цикл стерилизации каждой ТС (включая все стадии: поочередный прогрев паром и вакуумирование камеры стерилизатора, нагрев камеры до температуры стерилизации, непосредственно сама стерилизация и вакуумная сушка камеры) занял от 38 до 42 минут (в зависимости от количества кассет с ампулами, наполненными и запаянными, в загрузке).

В процессе термической стерилизации ампул отклонений не выявлено, потерь ампул с раствором не обнаружено. Раствор в ампулах после стерилизации оставался бесцветным и прозрачным.

#### **2.6.7.7 Материальный баланс валидационной серии по стадиям**

По окончании производства были посчитаны материальные балансы и общие балансы по произведенной продукции по двум стадиям. Результаты расчетов представлены в таблицах 27, 28, 29, 30 и 31.

Таблица 27 – Материальный баланс валидационной серии на стадии «Приготовление и фильтрации раствора»

Приход		Расход	
Компонент	кг	Компонент	кг
Кальция глюконат	120,192	Раствор	1275,428
Молочная кислота	11,868	Потери раствора	
Пропиленгликоль	228,594	П1	0,432
Натрия гидроксид	5,720	П2	0,540
Вода для инъекций	929,626	П3	9,880
-	-	П4	9,720
Итого	1296,0	Итого	1296,0

Таблица 28 – Общий баланс раствора по стадии «Приготовление и фильтрации раствора»

Масса приготовленного раствора, кг	Масса потерь раствора на стадии, кг	Теоретический выход со стадии с учетом потерь, кг	Фактический выход со стадии с учетом потерь, кг
1296,0	20,572	1270,08	1275,428

Как видно из таблицы 28, фактический выход массы раствора со стадии «Приготовление и фильтрация раствора» больше теоретического, следовательно, процент отклонения от нормы меньше 0 %.

Таблица 29 – Материальный баланс валидационной серии на стадии «Наполнение, запайка и стерилизация ампул»

Приход			Расход		
Компонент	кг	шт	Компонент	кг	шт
Пустые ампулы	-	112240	Раствор в ампулах	1259,97	108994
Раствор	1275,428	-	Пустые ампулы	-	1618
-	-	-	Потери раствора и ампул		
-	-	-	П5	-	291
-	-	-	П6	1,388	120
-	-	-	П7	0,347	30
-	-	-	П8	0,463	40
-	-	-	П9	9,468	819
-	-	-	П10	3,792	328
Итого	1275,428	112240	Итого	1275,428	112240

Таблица 30 – Общий баланс раствора по стадии «Наполнение, запайка и стерилизация ампул»

Масса раствора, пришедшего на стадию, кг	Масса потерь раствора на стадии, кг	Теоретический выход со стадии с учетом потерь, кг	Фактический выход со стадии с учетом потерь, кг
1275,428	15,458	1231,98	1259,97

Таблица 31 – Общий баланс ампул по стадии «Наполнение, запайка и стерилизация ампул»

Количество ампул, пошедших на стадию (без учета оставшихся), шт	Количество потерь ампул на стадии, шт	Теоретический выход со стадии с учетом потерь, шт	Фактический выход со стадии с учетом потерь, шт
110622	1628	106610	108994

Как видно из таблиц 30 и 31, фактический выход массы раствора и количества ампул со стадии «Приготовление и фильтрация раствора» больше теоретического, следовательно, процент отклонения от нормы меньше 0 %.



## Заключение

В ходе проделанной научно-исследовательской работы были выполнены поставленные задачи. Были изучены факторы, влияющие на стабильность раствора кальция глюконата в процессе приготовления и розлива в ампулы. Благоприятными факторами являются: повышенная температура процесса растворения кальция глюконата (близкая к температуре кипения раствора), повышение вязкости раствора (путем введения в состав вязких компонентов), непродолжительное пребывание раствора в щелочной среде (с рН в пределах 9,8–10,2), введение стадии предварительной фильтрации раствора (для удаления из раствора посторонних нерастворимых механических включений – потенциальных центров кристаллизации).

Был подобран состав раствора кальция глюконата, проявляющий более стабильное состояние по сравнению с исходным составом. В исходном составе раствора был заменен стабилизатор (янтарная кислота с концентрацией 5 мг/мл на молочную кислоту с концентрацией 10 мг/мл) и введен новый компонент, повышающий вязкость системы (пропиленгликоль с концентрацией 190 мг/мл в качестве соразтворителя). Обновленный состав раствора кальция глюконата в сочетании с измененными технологическими параметрами процесса приготовления позволили достичь поддержания стабильности раствора кальция глюконата на протяжении более 24 часов с момента окончания приготовления.

Обновленный состав раствора был приготовлен и разлит в ампулы в различных вариациях технологии производства растворов стерильных лекарственных средств. Все варианты растворов были заложены для изучения стабильности методом ускоренного старения. По результатам исследований было определено, что для сохранения стабильного состояния раствора кальция глюконата в запаянной ампуле в процессе хранения подходит технология производства с финишной стерилизацией препарата. В

связи с этим был выбран наиболее надежный и выгодный вариант приготовления и розлива раствора кальция глюконата – автоклавирование раствора в первичной упаковке при 121 °С в течение 8 минут без использования газовой защиты азотом.

Также была достигнута поставленная цель научно-исследовательской работы – оптимизация технологии производства лекарственного препарата «Кальция глюконат». На основании полученных данных в ходе исследований было проведено масштабирование и перенос технологии производства кальция глюконата из лабораторных условий в промышленные. Были рассчитаны нормы расхода сырья и ампул, а также материальные балансы по стадиям производства. По итогу расчетов была произведена валидационная серия раствора кальция глюконата на промышленном оборудовании, а также были проанализированы полученные данные в ходе производства. Обновленный состав и технология производства раствора кальция глюконата позволили устранить нежелательные факторы, мешающие производству промышленных серий: самопроизвольное образование кристаллов кальция глюконата в растворе в процессе хранения и розлива, остановка процесса производства по причине оседания кристаллов на стерилизующем фильтре или на подвижных частях оборудования, получение ложно заниженных результатов физико-химического анализа раствора. На протяжении всего процесса производства валидационной серии раствор оставался стабильным (отсутствовало самопроизвольное помутнение раствора и выпадение кристаллов), этот фактор позволил произвести полноценную промышленную (валидационную) серию без излишних потерь времени, ресурсов и самого лекарственного препарата.

## Список используемой литературы

1. Алашеев С.О., Орлов Ю.Н. Получение стабильного раствора лекарственного препарата «Кальция глюконат» / Международный научный журнал «Инновационная наука» – Уфа – 2023 – С. 167 – 169.
2. Алеева Г.Н. Роль вспомогательных веществ в обеспечении фармацевтических и терапевтических свойств лекарственных препаратов (обзор) / Г.Н. Алеева, М.В. Журавлева, Р.Х. Хафизьянова // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 43, №4. – С 51-56.
3. Алмакаева Л.Г., Георгиевский В.П., Бегунова Н.В. Оптимизация состава и технологии производства раствора кальция глюконата для инъекций / Фармаком – 2008 – №3 – С. 77 – 83.
4. Ахметов М.М., Коньгин Г.Н., Рыбин Д.С., Петухов В.Ю., Гумаров Г.Г., Конов А.Б. Изучение пространственного строения глюконата кальция в водном растворе / Химическая физика и мезоскопия – Том 19 – №1 – 2017 – С. 58 – 66.
5. Ахметов М.М., Коньгин Г.Н., Рыбин Д.С., Петухов В.Ю., Гумаров Г.Г., Конов А.Б. ЯМР исследование конформации лекарственного препарата глюконата кальция в водном растворе / Структура и динамика молекулярных систем – Йошкар-Ола – 2017 – С.14.
6. Ахумов Е.И. Исследование пересыщенных водных растворов солей: Госхимиздат, 1967. – 128 с.
7. Варгейчик Е.Н. Изучение растворимости кальция глюконата в тройной системе кальция глюконат - кальция лактат - вода / Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии – 2007 – №2 – С. 16 – 18.
8. Варгейчик Е.Н., Рыкунова И.П. Криоскопическое изучение двухкомпонентных растворов, содержащих 10% раствор кальция глюконата / Медико-социальная экология личности состояние и перспективы материалы междунар. Конф., - Минск. Издат центр БГУ, 2007 - С 261–264.

9. Волков М. Ю., Заболоцкая А. А. Применение метода ускоренного старения для установления сроков годности // Биотехнология. - 2011. - №1. - С. 7–10.

10. ГОСТ 4328–77 «Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия».

11. ГОСТ Р 52249–2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. М., 2010. 133 с.

12. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIV изд. – Т.І. – Москва, 2018. – 1814 с.

13. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIV изд. – Т.ІІ. – Москва, 2018. – 1147 с.

14. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIV изд. – Т.ІІІ. – Москва, 2018. – 1924 с.

15. Губанова Л.Б. Изучение влияния лимонной и яблочной кислот на растворимость кальция глюконата / Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции сб науч тр - Пятигорск ГФА, 2006 - вып 61 – С. 285-287.

16. Жукова, О. В. Фармацевтические композиции для восполнения кальциевого дефицита / О. В. Жукова. — Текст : непосредственный // Молодой ученый. — 2016. — № 21 (125). — С. 61-63. — URL: <https://moluch.ru/archive/125/34405>.

17. Канунникова О.М., Шаков А.А., Рыжков Д.Ф. Исследование структурно-чувствительных свойств водных растворов механоактивированного глюконата кальция / Журнал «Материаловедение» – № 12 – 2011 – С. 15 – 21.

18. Корниенко, М.Ф. Разработка, исследование и технологическое обоснование оптимальных лекарственных форм для кальция глюконата. Пятигорск, 1999. - 21с.

19. Мерсон Е.Д., Данилов В.А., Д.Л. Мерсон Д.Л. Количественный анализ изломов при помощи конфокальной лазерной сканирующей микроскопии/ Вектор науки ТГУ – 2015 – № 4 (34) – С. 68 – 75.

20. Мурашкина И.А., Гордеева В.В. Вспомогательные вещества в фармацевтической технологии: Учеб. Пособие. – М., 2018. – 64 с.

21. Раствор кальция глюконата для инъекций и способ его получения: пат. 2007128891 Рос. Федерация: МПК А61К 31/00 / Алмакаева Л. Г., Бегунова Н. В.; заявитель патентообладатель: Открытое Акционерное Общество "Новосибхимфарм" – № 2007128891/15, заявл. 2007.07.27; опубл. 2009.02.10, Бюл. №4. – 1 с.

22. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 77 (ред. От 14.07.2021) "Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза".

23. Рыкунова И.П., Вергейчик Е.Н., Губанова Л.Б. Изучение влияния яблочной кислоты на растворимость кальция глюконата / Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии – 2006 – №1 – С. 31 – 33.

24. Рыкунова И.П. Изучение влияния кислот и солей на растворимость кальция глюконата и разработка его стабильного 10% раствора: автореф. Дис. Канд. Фармацевт. Наук. Пятигорск, 2007. 21 с.

25. Способ получения глюконата кальция для инъекционных растворов (варианты): пат. 2162693 Рос. Федерация: МПК А61К 31/19, А61К 9/08, А61К 31/22, А61Р 37/08 / Карпун Е.В., Чумаков С.И., Яценко П.Г., Жариков Р.Д., Щербинина Е.В., Чернова М.В., Дедилов А.М., Исаева Е.Д.; заявитель патентообладатель: ОАО "Белгородвитамины" – № 99102794/14, заявл. 1999.02.09; опубл. 2001.02.10. – 10 с.

26. Способ получения раствора глюконата кальция 10%-ного для инъекций: пат. 2287988 Рос. Федерация: МПК А61К 31/91, А61К 9/08 / Юсупов В. Г., Алсынбаев М. М., Козырева М. Х., Загидуллин Н. В., Лебедева А. В., Хисамутдинов Р. А.; заявитель патентообладатель: Федеральное

государственное унитарное предприятие "Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам "МИКРОГЕН" Министерства здравоохранения Российской Федерации – № 2005117846/15, заявл. 2005.06.09; опубл. 2006.11.09, Бюл. №33. – 8 с.

27. Способ получения стабильного раствора кальция глюконата для инъекций: пат. 2332994 Рос. Федерация: МПК А61К 31/191, А61К 9/08, А61К 47/12 / Вергейчик Е.Н., Рыкунова И.П., Губанова Л. Б.; заявитель патентообладатель: Государственное Общеобразовательное Учреждение высшего профессионального образования "Пятигорская государственная фармацевтическая академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" – № 2007110013/15, заявл. 2007.03.19; опубл. 2008.09.10, Бюл. №33. – 8 с.

28. Стабильный водный раствор кальция глюконата для инъекций: пат. 2481831 Рос. Федерация: МПК А61К 31/191, А61К 47/12, А61К 9/08, А61Р 3/14 / Боровиков В. Э., Виноградов В. А.; заявитель патентообладатель: Боровиков В. Э., Виноградов В. А. – 2012107788/15, заявл. 2012.03.01; опубл. 2013.05.20, Бюл. № 14. – 7 с.

29. ТУ 9462-001-53908805-2006 «Ампулы стеклянные шприцевого наполнения для лекарственных средств».

30. Федотов А.Е. Производство стерильных лекарственных средств. М., АСИНКОМ, 2012. – 400 с.

31. Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»: федеральный закон от 12.04.2010; в ред. От 04.06.2018 // Собрание законодательства РФ. – 2010. – № 16. – Ст. 1815.

32. Шарафутдинова Д.Р., Ефремов Ю.Я., Ризвано И.Х., Коньгин Г.Н., Рыбин Д.С., Стрелков Н.С. Изучение состава и структуры глюконата кальция и его механоактивированной (нанодисперсной) формы / Журнал структурной химии – Том 51 – 2010 – С. 145 – 147.

33. Chakraborty A., Can A.S. Calcium Gluconate [Text] / A. Chakraborty // Treasure Island (FL): statpearls Publishing; 2021 (July 2).

34. European Pharmacopoeia 8.0/ Council of Europe. – 8.0 ed. – vol. 2. – Strasbourg, 2014. – 2133 p.

35. Gouveia B. G., Rijo P., Goncalo T. S., Reis C. P. Good manufacturing practices for medicinal products for human use [Text] / B. G. Gouveia, P. Rijo, T. S. Goncalo, and C. P. Reis // Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. – 2015 Apr-Jun; 7(2). – pp. 87–96.

36. Sandle T. Release of sterile products – looking at the focal points [Text] / T. Sandle // European Pharmaceutical Review. – Volume 25 (04), 2020. – pp. 6-11.

37. The United States Pharmacopeia 42 – National Formulary 37, Reissue 2019.

## Приложение А

### Расчет сырья для экспериментов

1) Расчет сырья для проведения экспериментов № 1–6.

Для проведения экспериментов № 1–6 готовились растворы объемом 100 мл ( $V_{p-pa}$ ). Для приготовления целевого количества раствора с необходимой концентрацией компонентов расчет массы сырья ( $M_c$ , г) проводился по формуле (1) (из пункта 2.1.1.2).

Расчет кальция глюконата для эксперимента № 1, 2, 3, 4 и 5:

$$M_{(КГ)} = \frac{100 \cdot 100}{1000} = 10 \text{ г}$$

Расчет частей кальция глюконата для эксперимента № 6:

$$M_{(0,5\% КГ)} = \frac{5 \cdot 100}{1000} = 0,5 \text{ г (соответствует концентрации 5 мг/мл(0,5\%))}$$

$$M_{(1\% КГ)} = \frac{10 \cdot 100}{1000} = 1 \text{ г (соответствует концентрации 10 мг/мл (1\%))}$$

Расчет янтарной кислоты для эксперимента № 1 и 5:

$$M_{(ЯК 1,5)} = \frac{5 \cdot 100}{1000} = 0,5 \text{ г}$$

Расчет янтарной кислоты для эксперимента № 2:

$$M_{(ЯК 2)} = \frac{10 \cdot 100}{1000} = 1 \text{ г}$$

Расчет янтарной кислоты для эксперимента № 3:

$$M_{(ЯК 3)} = \frac{15 \cdot 100}{1000} = 1,5 \text{ г}$$

Расчет янтарной кислоты для эксперимента № 4:

$$M_{(ЯК4)} = \frac{20 \cdot 100}{1000} = 2 \text{ г}$$

Расчет 1М раствора натрия гидроксида не ведется, так как задача 1М раствора натрия гидроксида – довести рН полученного раствора до значения 6,0–7,5 (целевой диапазон рН 6,6–7,3) и в каждом из экспериментов



количество затраченного 1М раствора натрия гидроксида может быть разным.

2) Расчет сырья для проведения экспериментов № 7–20.

Для проведения экспериментов № 7–20 готовились растворы объемом 100 мл ( $V_{p-ра}$ ). Для получения растворов с целевой концентрацией компонентов расчет необходимого сырья для экспериментов ( $M_c$ , г) проводился по формуле (1) (из пункта 2.1.1.2).

Расчет кальция глюконата для экспериментов № 7–20:

$$M_{(КГ)} = \frac{100 * 100}{1000} = 10 \text{ г}$$

Расчет янтарной кислоты для экспериментов № 8, 14 и 15:

$$M_{(ЯК 8,14,15)} = \frac{5 * 100}{1000} = 0,5 \text{ г}$$

Расчет янтарной кислоты для экспериментов № 9, 10 и 16:

$$M_{(ЯК 9,10,16)} = \frac{10 * 100}{1000} = 1 \text{ г}$$

Расчет молочной кислоты для экспериментов № 7 и 17:

$$M_{(МК 7,17)} = \frac{5 * 100}{1000} = 0,5 \text{ г}$$

Расчет молочной кислоты для экспериментов № 17 и 19:

$$M_{(МК 17,19)} = \frac{10 * 100}{1000} = 1 \text{ г}$$

Расчет молочной кислоты для эксперимента № 20:

$$M_{(МК 20)} = \frac{20 * 100}{1000} = 2 \text{ г}$$

Расчет глицина для эксперимента № 18:

$$M_{(ГЛ)} = \frac{10 * 100}{1000} = 1 \text{ г}$$

Расчет пропиленгликоля для эксперимента № 11:

$$M_{(ПГ 11)} = \frac{100 * 100}{1000} = 10 \text{ г}$$

Расчет пропиленгликоля для экспериментов № 12 и 15:

$$M_{(\text{ПГ } 12,15)} = \frac{200 \cdot 100}{1000} = 20 \text{ г}$$

Расчет пропиленгликоля для экспериментов № 13 и 14:

$$M_{(\text{ПГ } 13,14)} = \frac{150 \cdot 100}{1000} = 15 \text{ г}$$

Расчет пропиленгликоля для экспериментов № 16, 17, 18, 19 и 20:

$$M_{(\text{ПГ } 16,17,18,19,20)} = \frac{190 \cdot 100}{1000} = 19 \text{ г}$$

3) Расчет сырья для проведения экспериментов № 21 и 22.

Для проведения экспериментов № 21 и 22 готовились растворы объемом 1000 мл ( $V_{\text{р-ра}}$ ). Для получения растворов с целевой концентрацией компонентов расчет необходимого сырья для экспериментов ( $M_c$ , г) проводился по формуле (1) (из пункта 2.1.1.2).

Расчет кальция глюконата, необходимого для экспериментов:

$$M_{(\text{КГ})} = \frac{100 \cdot 1000}{1000} = 100 \text{ г}$$

Расчет молочной кислоты, необходимой для экспериментов:

$$M_{(\text{МК})} = \frac{10 \cdot 1000}{1000} = 10 \text{ г}$$

Расчет пропиленгликоля, необходимого для экспериментов:

$$M_{(\text{ПГ})} = \frac{190 \cdot 1000}{1000} = 190 \text{ г}$$

## Приложение Б

### Методика наполнения, запайки и стерилизации ампул

#### 1) Подготовка ампул.

Перед наполнением ампул раствором производят их очистку и стерилизацию. Процесс мойки и стерилизации ампул осуществляют на промышленном оборудовании: на машине мойки ампул и в стерилизационном туннеле проходного типа.

Ампулы помещают в загрузочный лоток машины мойки. Мойка ампул осуществляется шприцевым методом. Посредством душирующей установки ампулы наполняются оборотной водой, что препятствует их всплыванию в ультразвуковой ванне, где происходит отделение частиц и загрязнений. Ампулы перемещаются с помощью шнека к барабану машины мойки, где происходит их очистка.

Далее ампулы, предварительно перевернутые «горлом» вниз, проходят следующие этапы очистки:

- мойка оборотной ВДИ дважды изнутри и один раз снаружи;
- продувка стерильным сжатым воздухом изнутри;
- полоскание изнутри ВДИ, профильтрованной через фильтр с рейтингом фильтрации 0,2 мкм;
- продувка стерильным сжатым воздухом дважды изнутри и один раз снаружи.

Затем чистые пустые ампулы поворачиваются «горлом» вверх и с помощью передающего устройства поступают на транспортную ленту в стерилизационный туннель проходного типа.

В стерилизационном туннеле пустые ампулы проходят через три зоны:

- зону сушки (при температуре 18–24 °С в течение не менее 15 мин);
- две зоны стерилизации (при температуре 295–305 °С в течение не менее 15 мин);

- зону охлаждения (при температуре 18–24 °С в течение не менее 15 мин).

Во все зоны туннеля подается воздух, прошедший через высокотемпературные HEPA (High Efficiency Particulate Arrestance) фильтры тонкой очистки. Охлажденные до комнатной температуры стерильные чистые пустые ампулы перемещаются транспортером на загрузочный стол машины наполнения и запайки ампул.

Рабочая зона машины наполнения и запайки ампул (включая загрузочный стол) окружена барьерной системой с ограниченным доступом (в двери барьера вмонтированы перчатки-рукава, с помощью которых и осуществляются все операции в рабочей зоне). Так же в рабочей зоне машины наполнения и запайки ампул создается вертикальный однонаправленный ламинарный поток воздуха со скоростью 0,36–0,54 м/с, подаваемый воздух проходит через HEPA фильтры. Чистые и простерилизованные ампулы с помощью стерильного пинцета отбирают с загрузочного стола и помещают в пакеты для стерилизации (пакеты так же заранее стерилизуются в автоклаве), после чего пакеты запечатываются.

## 2) Наполнение и запайка ампул.

Процесс наполнения и запайки осуществляют в шкафу с ламинарным потоком воздуха, розлив раствора в ампулы осуществляют с помощью дозирующей системы, запайку ампул осуществляют с помощью многофункционального портативного плазменного комплекса. Все манипуляции происходят в помещении класса чистоты «В».

Перед проведением работ в ламинарном шкафу проводят подготовительные операции: очищают рабочую зону безворсовой салфеткой, смоченной спиртом этиловым 76%-ным, затем в течение 15 минут вентилируют и облучают с помощью УФ-лампы рабочую зону ламинарного шкафа.

Перед проведением процесса наполнения и запайки ампул подготавливают фильтрационную систему (стеклянная воронка, колба

Бунзена, фильтродержатель) и систему дозирования (бутылка и диспенсер-дозатор). Все элементы очищают ВДИ, затем продувают сжатым воздухом, запаковывают в пакеты для стерилизации и проводят стерилизацию паром в автоклаве.

Затем в ламинарном шкафу включают ламинарный поток воздуха (скорость потока воздуха 0,36–0,54 м/с) и в рабочую зону помещают банку с готовым раствором кальция глюконата, подготовленные ампулы, фильтрационную систему, дисковые мембранные фильтры из полиэфирсульфона (с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм), систему дозирования, горелку плазменного комплекса (заправленную 20%-ным раствором спирта этилового), пинцет и стеклянный стакан (для слива раствора). После этого опускают защитное стекло ламинарного шкафа до уровня рабочей высоты.

После подготовительных операций собирают стерильную фильтрационную установку и подключают к ней вакуумный насос. В стеклянную воронку установки переливают 100 мл фильтруемого раствора, дожидаются полного смачивания мембранного фильтра (до первой капли раствора в приемной колбе), затем включают вакуумный насос и проводят фильтрацию раствора через мембранные фильтры (путем разрежения давления в приемной колбе с помощью вакуумного насоса).

После фильтрации раствор переливают в бутылку дозирующей системы и на бутылку устанавливают диспенсер-дозатор. Далее на диспенсере-дозаторе устанавливают и фиксируют указатель дозирования на отметке требуемого объема наполнения (10,8 мл), снимают защитный колпачок со сливного патрубка. Затем проливают систему дозирования отфильтрованным раствором (примерно 30 мл) и сливают его в стеклянный стакан. По окончании подготовки дозирующей системы к сети подключают плазменный комплекс и выставляют на блоке питания и управления прибора необходимые параметры для работы. Далее переходят непосредственно к самому процессу наполнения и запайки ампул.

К сливному патрубку диспенсера-дозатора подносят пустую ампулу таким образом, чтобы патрубок не касался внутренней поверхности капилляра ампулы. Плавным движением рукояти плунжера дозируют раствор в ампулу. Затем подносят к пламени горелки капилляр ампулы, после разогрева капилляра (начала плавления стекла) ампулу вращают до достижения момента плавления стекла и образования единой структуры (запаянной поверхности) на конце ампулы, остаток верхней части горловины ампулы удаляют пинцетом. Наполненную и запаянную ампулу ставят на стол рабочей зоны ламинарного шкафа. Все вышеперечисленные действия повторяют, пока в дозирующей системе не закончится раствор.

В случае использования технологии производства лекарственных препаратов с использованием азота (газовой защитой) ампулу перед наполнением раствором продувают азотом в течение 5 секунд, а также после наполнения раствором ампулу дополнительно продувают азотом (создают азотную подушку) еще 5 секунд. Только после этого производят запайку ампулы.

### 3) Стерилизация наполненных и запаянных ампул.

Процесс термической стерилизации наполненных и запаянных ампул осуществляют в паровом стерилизаторе.

Наполненные и запаянные ампулы помещают в перфорированные кассеты из нержавеющей стали. Кассеты маркируют идентификационными карточками, в которых отображена информация о растворе (наименование раствора) и номер варианта раствора.

С помощью панели управления открывают дверь парового стерилизатора, из камеры стерилизатора достают корзину и на ее полку складывают кассеты с ампулами. Свободные места в корзине укомплектовывают пустыми кассетами из нержавеющей стали для оптимального (равномерного) распределения температуры в камере стерилизатора. После этого корзину с кассетами помещают в камеру стерилизатора, в кассеты вставляют температурные датчики (для

мониторинга температуры в процессе стерилизации) и закрывают дверь стерилизатора с помощью панели управления.

На панели управления парового стерилизатора выбирают нужный режим стерилизации (121 °С в течение 8 минут или 105 °С в течение 30 минут) и запускают программу нажатием кнопки подтверждения. Цикл стерилизации состоит из нескольких стадий: подготовительная стадия (поочередная откачка воздуха из камеры стерилизатора и прогрев камеры водяным паром), стадия нагрева (до целевой температуры), стадия стерилизации (выдержка целевой температуры в камере стерилизатора в течение установленного времени) и стадия вакуумной сушки (для удаления из камеры стерилизатора пара и остаточной влаги). После окончания цикла стерилизации из камеры стерилизатора с противоположной стороны оборудования, открыв дверь, достают кассеты с ампулами.

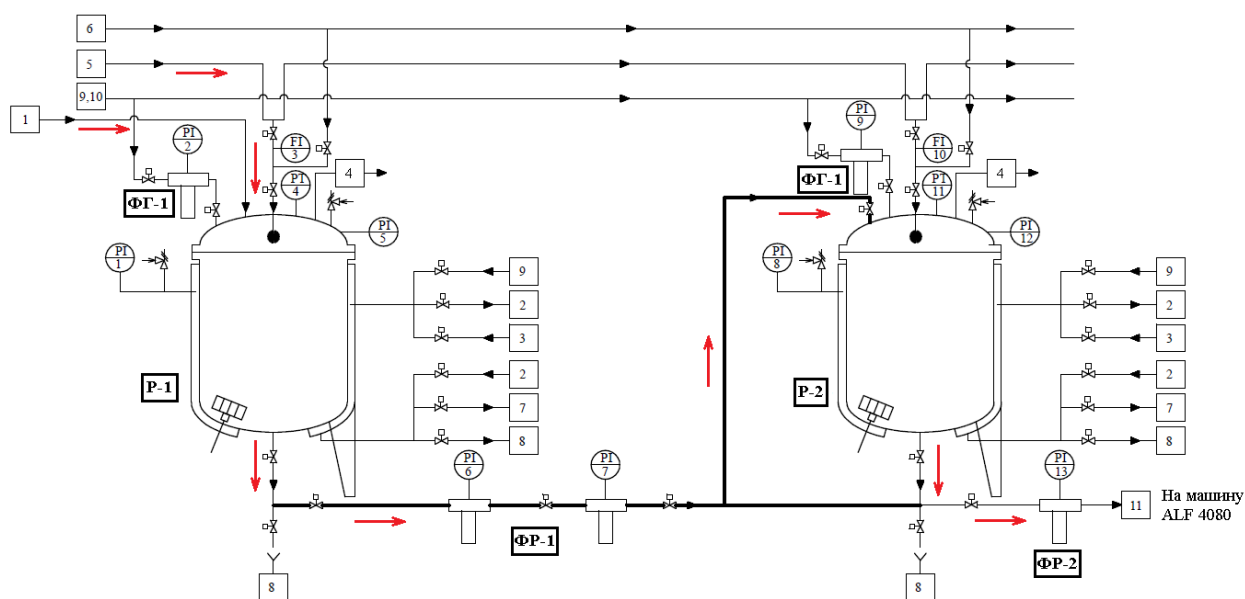
Процесс стерилизации считается пройденным без отклонений, если при основной стадии стерилизации температура при стерилизации не падала ниже целевого значения в течение установленного времени продолжительности стадии.

## Приложение В

### Выбор промышленного оборудования

1) Система приготовления растворов, предварительной фильтрации и стерилизующей фильтрации.

Система приготовления растворов, предварительной фильтрации и стерилизующей фильтрации предназначена для приготовления инъекционных лекарственных средств. Система состоит из двух идентичных реакторов (P-1 и P-2), двух фильтродержателей предварительной фильтрации (ФП-1), одного фильтродержателя стерилизующей фильтрации (ФП-2) и пульта управления. Данная система изображена на рисунке В.1.



1 – загружаемое сырье, 2 – охлажденная вода, 3 – технический пар, 4 – вентиляционные газы, 5 – вода для инъекций, 6 – чистый пар, 7 – конденсат, 8 – дренаж, 9 – сжатый воздух, 10 – сжатый азот, 11 – раствор препарата.

Рисунок В.1 – Схематическое изображение систем приготовления растворов, предварительной и стерилизующей фильтрации

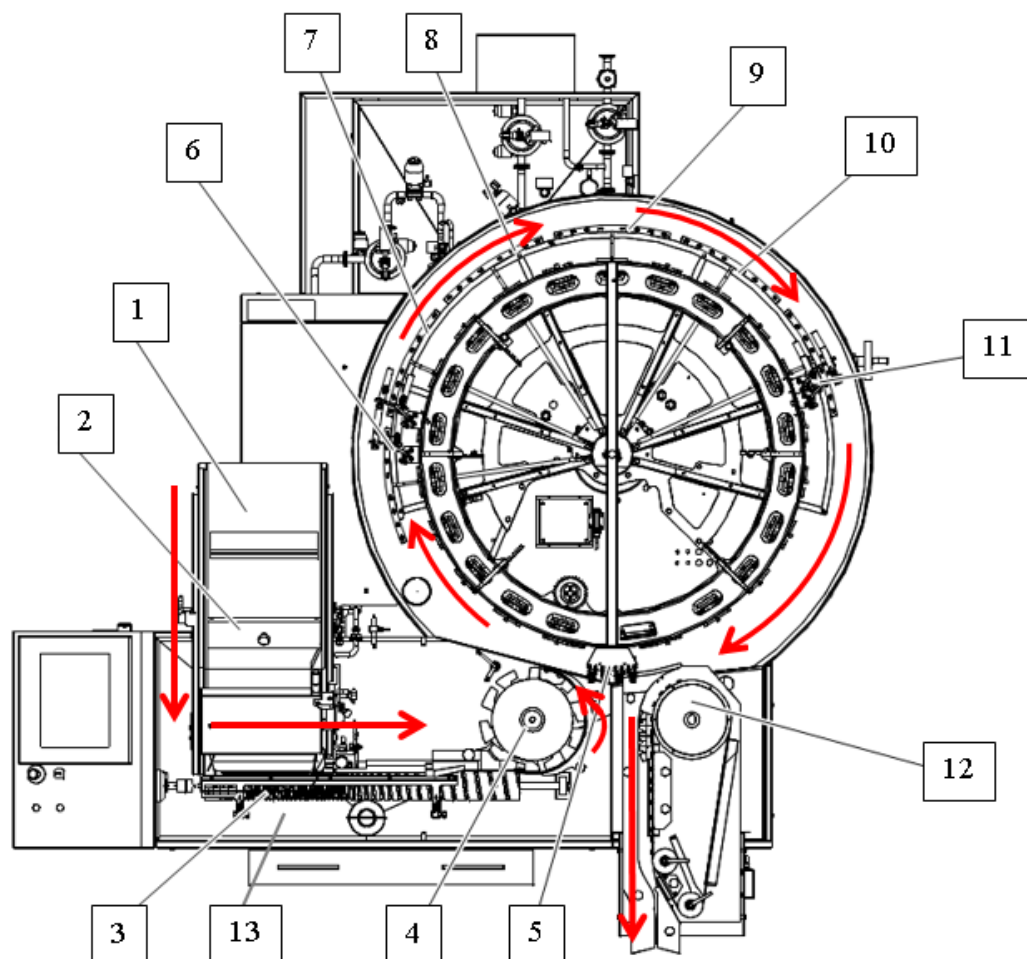
Реакторы для приготовления растворов PCBS 1500 LT изготовлены компанией «Olsa S.p.A.» (Италия). Реакторы оборудованы донной магнитной



мешалкой, рубашкой, спрей-болом (для подачи воды в реактор методом орошения), фильтродержателем (для установки фильтров для очистки поступающих в реактор газов), расходомером, уровнемером, барботажной трубкой, вспомогательными и основными трубопроводами. Части, контактирующие с раствором, изготовлены из нержавеющей стали марки AISI 316L, остальные части оборудования изготовлены из нержавеющей стали марки AISI 304. Характеристики оборудования: внутренний (рабочий) объем реактора – 1500 л, внутренний (рабочий) объем рубашки – 68 л, расчетное давление внутри реактора и рубашки – от минус 1 до плюс 3 бар, расчетная температура внутри реактора и рубашки – от минус 10 °С до плюс 143,7 °С, скорость магнитной мешалки от 50 до 380 об/мин. Оборудование находится в помещении класса чистоты «С».

2) Машина мойки ампул RRU 3085.

Машина мойки ампул RRU 3085 предназначена для внутренней и внешней очистки ампул. Оборудование изображено на рисунке В.2.



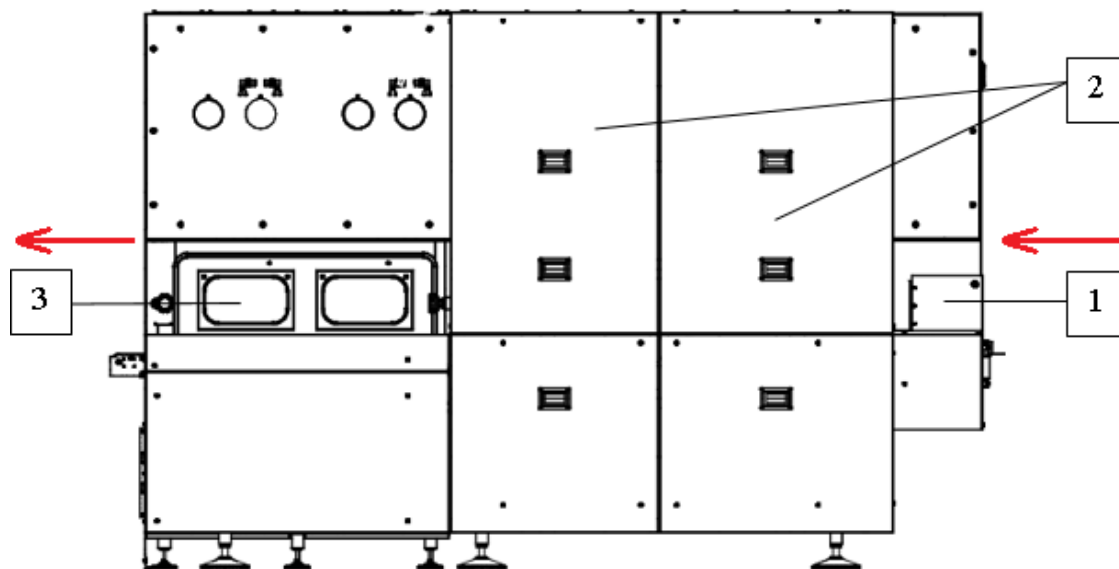
1 – подающий желоб, 2 – заполнитель (душ), 3 – подающий шнек, 4 – подъемник, 5 – головки с захватами, 6 – станция внутренней и внешней очистки сосудов оборотной водой, 7 – станция внутренней очистки сосудов оборотной водой, 8 – станция внутренней очистки сосудов воздухом, 9 – станция внутренней очистки сосудов водой для инъекций, 10 – станция внутренней очистки сосудов воздухом, 11 – станция внутренней и внешней очистки сосудов воздухом, 12 – участок выхода из машины.

Рисунок В.2 – Общий вид машины мойки ампул RRU 3085 (вид сверху)

Машина мойки ампул изготовлена компанией «Bosch» (Германия). Все этапы очистки ампул происходят под защитным кожухом машины мойки ампул. Все детали, подающие среды для мойки изготовлены из нержавеющей стали марки AISI 316L. Производительность машины: 13200 ампул (форматом 10 мл)/час. Температура воды в ультразвуковой ванне достигает 60 °С, температура используемой ВДИ примерно 85–87 °С.

### 3) Стерилизационный туннель HQL 3420.

Стерилизационный туннель предназначен для сушки и стерилизации ампул. Оборудование изображено на рисунке В.3.



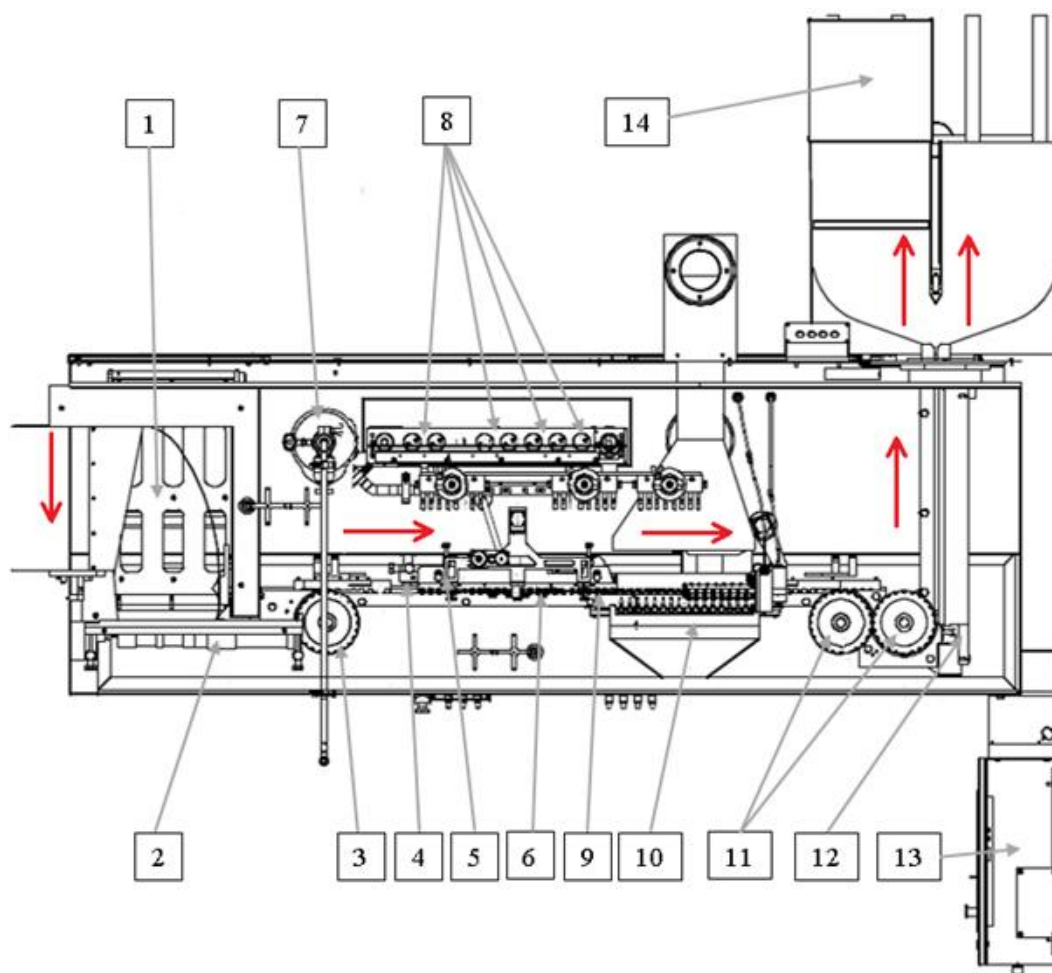
1 – зона сушки, 2 – зона стерилизации, 3 – зона охлаждения.

Рисунок В.3 – Общий вид стерилизационного туннеля HQL 3420 (вид сбоку)

Стерилизационный туннель изготовлен компанией «Bosch» (Германия). Камера и звенья транспортной ленты изготовлены из нержавеющей стали AISI 316L. Производительность туннеля: 13200 ампул (форматом 10 мл)/час. Скорость ламинарного потока воздуха в зонах: 0,5–0,7 м/с. Данное оборудование находится в помещении класса чистоты «D».

### 4) Машина наполнения и запайки ампул ALF 4080.

Машина наполнения и запайки ампул предназначена для наполнения ампул раствором и их герметизации методом запайки в асептических условиях. Машина изображена на рисунке В.4.



1 – подающий транспортер, 2 – шнек подачи, 3 – входное колесо, 4 – транспортирующая система, 5 – станция предварительной газации, 6 – станция наполнения, 7 – накопительная емкость, 8 – система дозирующих насосов, 9 – станция окончательной газации, 10 – станция запайки, 11 – выходные колеса, 12 – шнек выгрузки, 13 – шкаф управления, 14 – станция выгрузки.

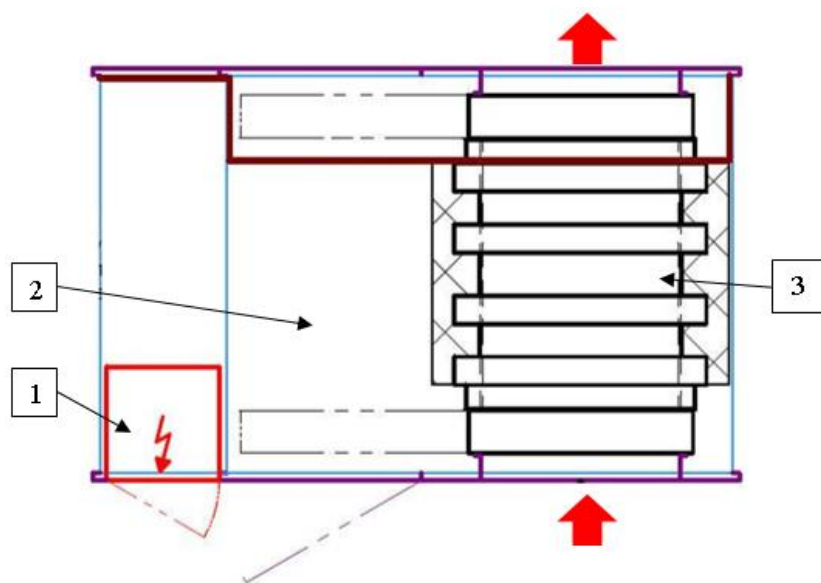
Рисунок В.4 – Общий вид машины наполнения и запайки ампул ALF 4080 (вид сверху)

Машина наполнения и запайки ампул изготовлена компанией «Bosch» (Германия). Детали машины, контактирующие с продуктом и технологическими средами, изготовлены из нержавеющей стали марки AISI 316L и силиконового материала (продуктовые шланги), данные детали перед использованием проходят предварительную очистку ВДИ и стерилизацию в паровом стерилизаторе. Части корпуса оборудования изготовлены из

нержавеющей стали марки AISI 304. Производительность машины: 13200 ампул (форматом 10 мл)/час. За один рабочий такт машина наполняет и запаивает одновременно 8 ампул. Скорость ламинарного потока в рабочей зоне от 0,36 до 0,54 м/с. Рабочая зона машины находится в локальной зоне класса чистоты «А», окруженная помещением класса чистоты «В», выгрузка наполненных и запаянных ампул осуществляется в помещение класса чистоты «D». Между зоной класса чистоты «А» и помещением класса чистоты «В» находится дверной барьер, в которой встроены порты с перчатками-рукавами RABS для проведения асептических манипуляций внутри машины.

#### 5) Паровой стерилизатор Turbotherm SDT.

Паровой стерилизатор предназначен для финишной стерилизации раствора в первичной упаковке (в запаянной ампуле). Оборудование изображено на рисунке В.5.



1 – панель управления, 2 – сервисная зона, 3 – камера стерилизатора.

Рисунок В.5 – Схематическое изображение парового стерилизатора (вид сверху)

Стерилизатор изготовлен компанией «SBM Bosch» (Австрия). Камера и двери стерилизатора изготовлены из нержавеющей стали AISI 316L. Объем камеры 2,03 м<sup>3</sup>, рабочее давление в камере от минус 1 до плюс 2,5 бар, допустимое давление пара 3,0 бар, допустимая температура в камере 135 °С. Данное оборудование находится в помещении класса чистоты «D».