

总有机碳 TOC 分析在制药设备清洁验证中的应用

陶雪筠, 李伟举

(浙江海正药业股份有限公司质检中心, 台州 318000)

摘要 目的: 中国 2010 年新版 GMP 要求所有制药企业需要对生产设备进行清洁验证, 总有机碳 TOC (Total Organic Carbon) 分析是非常适用于清洁验证的分析方法。**方法:** 对妥布霉素的生产设备, 建立了淋洗法与擦拭法结合的清洁规程, 用 TOC 分析仪检测清洁验证的样品。**结果:** TOC 分析妥布霉素, 得到良好的线性、回收率及精确度。建立的清洁验证规程可行, 对实际的清洁验证样品检测, TOC 数据重现性良好, 低于设立的允许残留限值。**结论:** TOC 方法非常适用于制药设备的清洁验证。TOC 表征所有的有机物污染程度, 为设备清洁验证提供了有力的安全性和可靠性。

关键词 总有机碳; TOC; 清洁验证; CV; 妥布霉素; 线性; 回收率; 淋洗水; 棉签擦拭; 系统适用性; 中国药典

TOC (Total Organic Carbon) Analysis Application in Cleaning Validation of Pharmaceutical Equipments

TAO Xue-jun, LI Wei-ju

(Quality Control Dept., Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd, Taizhou 318000, China)

Abstract Objective: China new GMP 2010 requires all pharmaceutical manufacturers to do Cleaning Validation (CV) for production equipments. Total Organic Carbon (TOC) analysis is very suitable as an analytical method for CV. **Methods:** For the production equipments of Tobramycin, we established the CV SOP with combination of rinse and swab sampling methods, and analyzed the CV samples with TOC analyzer. **Results:** We got satisfactory linearity, recovery and precision while measuring tobramycin with TOC analyzer. The established CV SOP is achievable. We measured CV samples and the TOC result represents good reproducibility, which are lower than allowable residue levels. **Conclusion:** TOC is a very good analysis method for CV of pharmaceutical equipments. TOC indicates contamination of all kinds of organics. It guaranteed safety and reliability of CV procedure.

Key words: Total Organic Carbon; TOC; Cleaning Validation; CV; Tobramycin; Linearity; Recovery; Rinse Water; Swab; System Suitability; China Pharmacopoeia

中国卫生部已经发布新版 GMP, 即《药品生产质量管理规范(2010 年修订)》, 并于 2011 年 3 月 1 日起施行。要求制药企业必须保证生产设备洁净。在 GMP 第一百四十三条规定: “清洁方法应当经过验证, 证实其清洁的效果, 以有效防止污染和交叉污染。清洁验证应当综合考虑设备使用情况、所使用的清洁剂和消毒剂、取样方法和位置以及相应的取样回收率、残留物的性质和限度、残留物检验方法的灵敏度等因素。^[1]” 根据美国联邦法规 CFR 211.67 的规定: “制药企业需要在适当的时间间隔内, 对设备和器具按照官方或其他已制定的规范进行清洁、维护和消毒, 防止那些能改变药物产品的安全、特性、浓度、质量、纯度的故障或交叉污染, 从而保证药品生产质量。^[2]” 国家 FDA 检查药品生产设备的清洁情况时, 将以 GMP 为依据, 要求制药企业提供有效的、连续的清洁验证数据及报告, 能够证明一个特定的清洁程序能一贯地在某个预先确定的限度内清洁设备; 取样和分析测试方法必须具有科学性和提供足够的科学基本原理来支持此验证。

制药设备清洁验证的取样过程, 我们采取了淋洗水法与棉签擦拭法相结合的方式。对难于擦拭取样的设备及管路, 采取淋洗水法。在分析方法上, 我们采用了 TOC 分析法。相比传统的 HPLC 分析法, TOC 方法分析清洁验证样品具有优势。一方面, 由于高效液相色谱 HPLC 方法要求分析前明确了解检测的目标化合物, 但对制药设备清洁过程而言, 药品原材料复杂, 且清洗过程中引入的有机溶剂与洗涤剂成分也很复杂。在无法确定目标化合物的情况下, 很难用 HPLC 手段定量地分析。并且 HPLC 方法要求对样品中存在的所有目标化合物提供标准品, 与样品同时平行测定。另一方面, 气相色谱 (GC) 和液相色谱 (HPLC)

的检测限 (LOD) 达不到要求, 均无法检测到浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 级别以下的样品, 其灵敏度不够。而用 TOC 方法测量的是有机物的总量, 不区分各种有机成分。任何的活性制药成分或者清洁过程中使用的有机溶剂 (如乙醇) 及洗涤剂的残留成分, 只要其分子结构中包含碳, 就能够检测到。此外, TOC 方法灵敏度高, 检测限可以到 ppb 级别; 检测时间短, 相比于 HPLC 数十分钟的检测时间, TOC 只需要 4—6 分钟左右; 不需要频繁使用标准品校准, 各品牌 TOC 仪的稳定性有所差别, 校准周期基本上在 3 个月至 1 年不等。

因此, TOC 分析方法, 相对于传统的 HPLC 方法, 更适合于清洁有效性的验证。

1 仪器与试剂

GE Sievers 820 型总有机碳 TOC 分析仪 (GE 美国通用电气公司); 蔗糖标准品 (美国药典委员会 USP); 1-4 苯醌标准品 (美国药典委员会 USP); 6M 磷酸试剂盒 (GE 美国通用电气公司); 15% 过硫酸铵试剂盒 (GE 美国通用电气公司); 注射用水 (浙江海正药业股份有限公司); 妥布霉素标准品 (中国食品药品检定研究院, 批号 0340-200002)

2 实验内容

2.1 仪器性能的确认

确认 GE Sievers 820 型总有机碳 TOC 分析仪的性能, 仪器采用 6M 磷酸试剂和 15% 过硫酸铵试剂的湿式氧化法, 结合 GE 公司专利的二氧化碳选择性薄膜电导率检测法。

根据《中国药典》2010 版进行系统适用性试验^[3], 用易氧化和难氧化两种标准品来考察仪器的氧化能力与检测能力, 确认仪器的性能。使用蔗糖标准品 (USP, 批号 LOT H1C223) 配制成 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的蔗糖标准溶液, 作为易氧化的有机物, 并测定其响应值 (R_s)。使用 1-4 苯醌标准品 (USP, 批号 LOT G1B145) 配制成 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 1,4-苯醌标准溶液, 作为系统适用性难氧化的有机物, 并测定其响应值 (R_{ss})。同时测定用于配制两瓶标准溶液的空白试剂水响应值 (R_w)。

$$\text{响应效率 } R: \quad R = \frac{R_{ss} - R_w}{R_s - R_w} \times 100\%$$

响应效率范围如果达到 85%-115% 之间, 则符合药典的要求。

各国药典均没有规定 TOC 分析仪系统适用性试验的频率。根据海正药业内部制定的标准操作规程 (SOP), 要求样品检测结束后, 再次检测系统适用性^{[4][5]}。这样确保样品检测值的准确性和可靠性。如果结束时检测的系统适用性不符合要求, 则之前的检测数据无效。QC 部门调查原因, 并重新进行系统适用性及样品测定。

系统适用性的数据见表 1。

表 1 TOC 仪系统适用性数据

Tab 1 System Suitability Data of TOC Analyzer

蔗糖标准溶液批号 (Lot No. of sucrose standard solution): 040809

1,4-苯醌标准溶液批号 (Lot No. of 1,4-benzoquinone standard solution): 040809

编号 (No.)	R_{ss} / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	R_s / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	R_w / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	响应效率 R (response efficiency R) /%	判断 (judge)
1	0.5228	0.5278	0.0271	99.0%	符合要求 (pass)
2	0.5236	0.5291	0.0280	98.9%	符合要求 (pass)

2.2 TOC 测定妥布霉素的校准曲线

制药设备生产的品种为妥布霉素，将其设为目标化合物，考察 TOC 方法对其回收率。
妥布霉素的分子式为 $C_{18}H_{37}N_5O_9$ ，分子量 467.52，其中含碳百分比为：

$$(18 \times 12 / 467.52) \times 100\% = 46.20\%$$

用妥布霉素标准品配成一系列不同浓度的标准溶液，用 TOC 分析仪检测各溶液所对应的响应值 (R_u)，和妥布霉素浓度之间的关系式，建立 TOC 测定值与妥布霉素含量之间的线性关系。

妥布霉素标准溶液配制：称取妥布霉素标准品 18.19 mg，其效价为 880 $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，即实际妥布霉素质量为 16.01 mg。溶解于 100 mL 水中，得到妥布霉素浓度为 160 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液；将其分别稀释 2 倍、4 倍、8 倍、16 倍，再分别稀释 100 倍，得到一系列标准溶液，妥布霉素浓度分别为 0.8、0.4、0.2、0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。测定此 5 瓶溶液的 TOC 值，测定结果见表 2。表 2 中第 2 列为妥布霉素的浓度，第 3 列为按 46.2% 的含碳量折算的妥布霉素标准溶液中碳的含量，即 TOC 理论值。第 4 列为 TOC 测定值。将表 2 中第 2 列妥布霉素标准溶液的配制浓度，与第 4 列 TOC 测定值，作线性图。见图 1。

表 2 妥布霉素标准溶液的 TOC 测定

Tab 2 TOC measurement of tobramycin standard solutions

编号 (No.)	妥布霉素配制浓度 (Tobramycin preparation concentration) / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	TOC 理论值 (TOC theoretical value) / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	TOC 测定值 R_u (TOC measured value R_u) / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	1.60	0.3724	0.8061
2	0.80	0.2211	0.4786
3	0.40	0.1424	0.3082
4	0.20	0.1023	0.2215
5	0.10	0.0773	0.1673

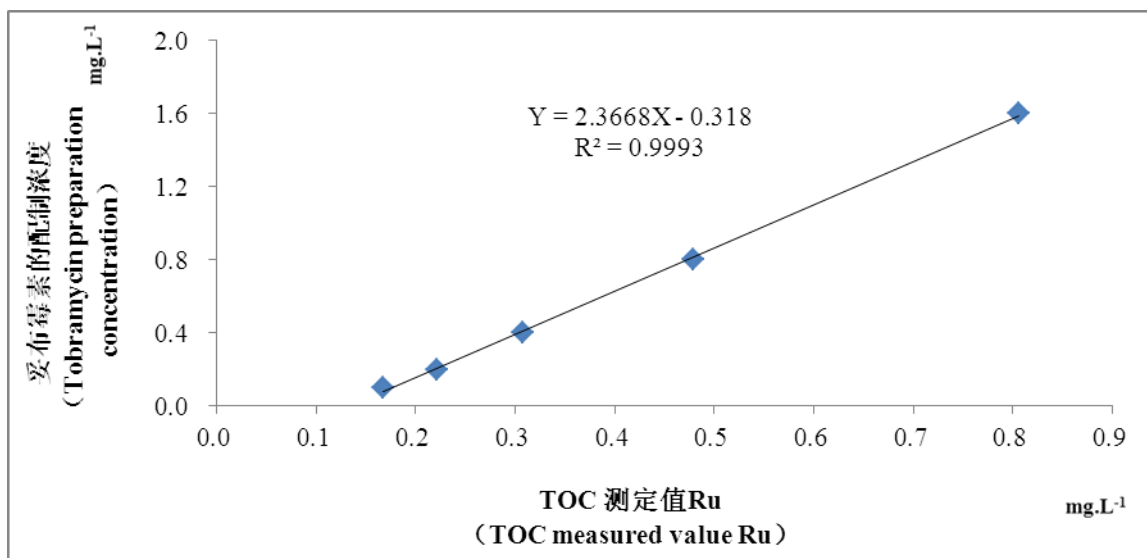


图 1 妥布霉素浓度与 TOC 测定值的线性关系

Fig 1 Linearity of tobramycin concentration and TOC measured value

由图 1 可以看出，TOC 的测定结果，与妥布霉素标准溶液的浓度，存在良好的线性关系，线性相关系数 R^2 达到 0.9993。由于此系列妥布霉素标准溶液在配制时，均使用空白试剂水。空白试剂水不可避免地含有 TOC。同时妥布霉素标准品的效价为 880 $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，也引入一定量的有机杂质。将图 1 中的标准曲线，

$Y = 2.3668X - 0.318$, 推至与 X 轴相交点。此时 Y 为零, 表示妥布霉素含量为零时, $X = 0.1344 \text{ mg C/L}$, 此即标准溶液配制的背景 TOC 含量, 来源于空白试剂水及妥布霉素标准品中的有机杂质。

将上述得到的公式, 扣除背景 TOC 含量, 即将标准曲线位移通过零点。即扣除背景后, 实际的妥布霉素浓度与 TOC 测定值的关系曲线。

$$Y = 2.3668X$$

Y: 妥布霉素的配制浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

X: TOC 的测定值, $\text{mg C}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 棉签擦拭取样过程的回收率

用棉签模拟擦拭不锈钢板, 步骤如下:

- (1) 准备 1 块 $500\times 500 \text{ mm}$ 的平整光洁的不锈钢板。
- (2) 在钢板上用钢锥划出 $400\times 400\text{mm}$ 的区域, 每隔 100mm 划线, 形成 16 块 $100\times 100\text{mm}$ 的方块。
- (3) 配制浓度为 $160 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的妥布霉素水溶液, 定量装入喷雾器。
- (4) 将约 10mL 溶液尽量均匀的喷在 $400\times 400\text{mm}$ 的区域内。
- (5) 根据实际喷出的溶液量计算单位面积上的妥布霉素量, 约 $1\mu\text{g}/100\text{mm}^2$ 。
- (6) 自然干燥, 或用电吹风温和地吹干不锈钢板。
- (7) 用注射用水润湿棉签, 按擦拭取样操作规程擦拭钢板, 每擦一个方块 (100 cm^2) 换一根棉签。在钢板上取均布的 8 个方块, 如图 2 所示, 使取样更具有代表性。

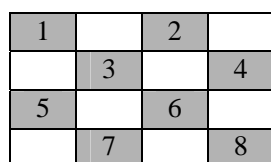


图2 棉签擦拭钢板的位置选取示意图

Fig 2 Sampling location selection of swabbing the steel plate

擦拭的路线及方式: 如图3所示, 按 (A) 所示擦拭路线用棉签的一侧擦拭, 擦拭时应尽量覆盖全部面积, 用力均匀。然后使用棉签另一面, 按 (B) 所示路线擦拭。依次按 (C) 与 (D) 用同根棉签的不同面擦拭。擦拭完毕后, 将棉签浸入装有 10 mL 注射用水的试管中浸泡 10 分钟。

注意: 应尽可能采用固定的力度, 擦拭速度和线路, 取样员可根据棉签弯曲的程度估算加在钢板表面的压力是否每次一致。

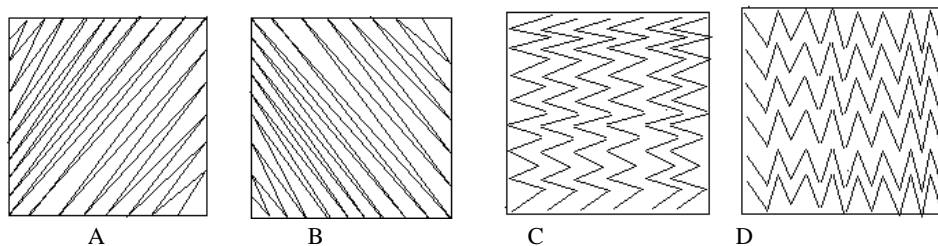


图3 每个方块的擦拭路线示意图

Fig 3 Swabbing route on each square

- (8) 将棉签分别放入试管中, 定量加入注射用水 10mL , 加塞, 轻摇试管, 并放置 10 分钟, 使物质溶出。然后将溶液稀释 10 倍。

则此清洁验证样品浓度的理论值为:

$$1\mu\text{g}/100\text{mm}^2 \times (100\times 100 \text{ mm}^2) / 10 \text{ mL} / 10 \text{ 倍} = 1 \mu\text{g}/\text{mL} = 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

- (9) 使用 TOC 分析仪测定此清洁验证水样的 TOC 值。

测定结果见表 3。由于配制的妥布霉素标准溶液，含有试剂空白水及妥布霉素标准品中的有机杂质，所以，这里使用未扣除背景 TOC 值的线性公式： $Y = 2.3668X - 0.318$ ，计算对应的妥布霉素浓度。

表 3 棉签擦拭法清洁验证回收率
Tab 3 Recovery of CV with swabbing method

编号 (No.)	TOC 测定值 R_u (TOC measured value) /mg•L ⁻¹	浸泡溶液妥布霉素的浓度 (Tobramycin concentration of immersion solution) /mg•L ⁻¹
1	0.5106	0.8905
2	0.5059	0.8794
3	0.4975	0.8595
4	0.5144	0.8995
5	0.5186	0.9094
6	0.527	0.9293
7	0.5017	0.8694
8	0.5121	0.8940
平均值 (Average) /mg•L ⁻¹	0.5110	0.8914
SD /mg•L ⁻¹	0.0102	0.0241
RSD /%	1.99	2.70

从表 3 中，可以看出，数据重复性良好。平均妥布霉素浓度为 0.8914 mg•L⁻¹，相对于理论值 1 mg•L⁻¹，则擦拭回收率为：

$$\text{擦拭回收率 (\%)} = 0.8914/1 \times 100\% = 89.4\%$$

这是比较理想的回收率。说明 TOC 分析方法适合妥布霉素的棉签擦拭法的清洁验证检测。

以上计算中，校正了试剂空白水的 TOC 背景，部分校正了妥布霉素标准品中的有机杂质。这里假设妥布霉素标准品中的有机杂质含量，远低于试剂空白水的 TOC 值，并且棉签、钢板、及试管所引入的有机污染相对于测定值，可以忽略不计。

2.4 清洁验证中妥布霉素允许残留限值计算

根据美国 FDA 于 1993 年发布的《清洁验证检查指南 (Guide to Inspection of Cleaning Validation)》^[6]，FDA 不设定残留限值，限值的设定应该是合理、可行、实用、可实现并可确效；分析方法的灵敏度对于建立有效的限值非常关键；建议参考的三个标准：10 ppm，生物活性水平（如普通治疗剂量的 1/1000，或者感官水平）。

我们选取 FDA 的推荐标准之一，10 ppm，作为清洁验证的产品残留默认限值，即 10 mg/kg，表示在下一批药品中，上一批药品的残留每公斤中不得超过 10 mg。

按此残留标准，分别确认清洁验证的淋洗水法与棉签擦拭法的 TOC 限值。

2.4.1 淋洗水法清洁验证的妥布霉素允许残留限值计算

对于妥布霉素的生产中的溶解罐、管路、储罐，采用淋洗水法进行清洁验证。操作过程如下：

- (1) 设备经冲洗完毕后，经目测检查无任何可见残留物。
- (2) 根据妥布霉素允许在下一批的残留为 10 mg/kg，确定可接受残留标准。

淋洗液妥布霉素残留浓度的可接受标准，计算公式为：

$$\text{前一产品的允许残留量 (mg)} = 10 \text{ mg/kg} \times \text{下一批的最小批量 (kg)}$$

$$\text{淋洗水中的允许残留限值 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = \text{前一产品的允许残留量 (mg)} / \text{淋洗水量 (L)}$$

妥布霉素的最小生产批量为 10 kg，对于溶解罐、管路、储罐，淋洗水使用量为 200 L，则淋洗水中的允许残留限值计算如下：

$$\text{前一产品的允许残留量 (mg)} = 10 \text{ mg/kg} \times 10 \text{ kg} = 100 \text{ mg}$$

$$\text{溶解罐、管路、储罐的淋洗水允许残留限值 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = 100 \text{ mg} / 200 \text{ L} = 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

对于过滤器，淋洗水使用量为 100 L，则淋洗水中的允许残留限值计算如下：

$$\text{过滤器的淋洗水允许残留限值 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = 10 \text{ mg/kg} \times 10 \text{ kg} / 100 \text{ L} = 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

将上述计算结果列表表示，见表 4。

表 4 淋洗水法清洁验证的妥布霉素允许残留限值

Tab 4 Tobramycin allowable residue limit in CV rinse water

设备名 (equipment name)	冲洗液体积 (rinse water volume) /L	允许残留限值 (allowable residue limit) /mg·L ⁻¹
溶解罐、管路、储罐 (dissolution tank, piping, storage tank)	200	0.5
过滤器 (filter)	100	1

2.4.2 棉签擦拭清洁验证的妥布霉素允许残留限值计算

棉签擦拭妥布霉素残留的可接受标准，计算公式为：

$$\text{允许残留 (mg/擦拭)} = 10 \text{ mg/kg} \times \text{下一批的最小批量 (kg)} \times \text{擦拭面积 (m}^2\text{)} / \text{料液接触面积 (m}^2\text{)}$$

$$\text{允许残留限值 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = \text{允许残留 (mg)} / \text{浸泡液体积 (L)}$$

对于冻干机^[7]、装盘容器、不锈钢盘，采用棉签擦拭法进行清洁验证，擦拭面积均为 5×5 cm，浸泡水均使用 10 mL，料液接触面积分别为 25、1、20 m²。则棉签擦拭法浸泡液中的允许残留限值计算如下：

$$\text{冻干机内残留浓度 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = 10 \text{ mg/kg} \times 10 \text{ kg} \times 0.0025 \text{ m}^2 / (25 \text{ m}^2 \times 0.01 \text{ L}) = 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$\text{装盘容器残留浓度 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = 10 \text{ mg/kg} \times 10 \text{ kg} \times 0.0025 \text{ m}^2 / (1 \text{ m}^2 \times 0.01 \text{ L}) = 25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$\text{不锈钢盘 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} = 10 \text{ mg/kg} \times 10 \text{ kg} \times 0.0025 \text{ m}^2 / (20 \text{ m}^2 \times 0.01 \text{ L}) = 1.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

将上述计算结果列表表示，见表 5。

表 5 棉签擦拭法清洁验证的妥布霉素允许残留限值

Tab 5 Tobramycin allowable residue limit of CV swabbing

设备名 (equipment name)	取样部位 (sampling location)	擦拭面积 (swabbing area) /m ²	料液接触面积 (product contact area) /m ²	浸泡液体积 (immersion solution volume) /L	允许残留限值 (allowable residue limit) /mg·L ⁻¹
冻干机 (freeze dryer)	上部层板 (upper plate)	0.0025	25	0.01	1
	中部层板 (middle plate)	0.0025		0.01	1
	下部层板 (lower plate)	0.0025		0.01	1
	厢体顶部中间 (middle of tank top)	0.0025		0.01	1
	厢体底部中间 (middle of tank bottom)	0.0025		0.01	1
	厢体右下角 (lower right corner of tank)	0.0025		0.01	1
	厢体左上角 (upper left corner of tank)	0.0025		0.01	1
装盘容器 (plate filling container)	器壁 (tank wall)	0.0025	1	0.01	25
	底部 (bottom)	0.0025		0.01	25
不锈钢盘 (stainless steel plate)	盘角 (plate corner)	0.0025	20	0.01	1.25

2.5 对生产设备的清洁验证数据

首先对 TOC 仪，进行系统适用性试验。结果合格，数据见表 6。

表 6 生产设备清洁验证前 TOC 分析仪的系统适用性试验
Tab 6 System suitability test of TOC analyzer before equipment CV

标准溶液批号 (Lot No. of standard solutions) 040809

系统适用性溶液批号 (Lot No. of system suitability test solutions) 040809

编号 (No.)	R_{ss} /mg•L ⁻¹	R_s /mg•L ⁻¹	R_w /mg•L ⁻¹	响应效率 R (response efficiency R) /%	判断 (judge)
1	0.5259	0.5368	0.0323	97.8%	符合要求 (pass)
2	0.5298	0.5355	0.0318	98.9%	符合要求 (pass)

测试妥布霉素连续三批生产用到的冻干设备和管路。在每批生产结束后按清洗程序进行清洗，检测妥布霉素生产设备淋洗液和棉签擦拭法棉签浸泡溶液的响应值，并按线性公式： $Y=2.3668X$ ，计算其所对应的妥布霉素残留浓度，并与可接受的允许残留限度比较，判断清洁程度是否合格。这里将样品中可能存在的所有有机杂质，均假设为药性最强的妥布霉素，即“最坏情形的假设”。以此来有效控制制药设备的有机污染水平。

结果见表 7。数据表明，TOC 测定值的稳定性和各批次之间的重现性都非常理想，妥布霉素残留浓度低于允许残留限值，达到清洁目的。

表 7 生产设备清洁验证样品的 TOC 测定
Tab 7 TOC analysis of production equipment CV samples

检测日期 (measure date) 2004.08.10.
 样品名称 (sample name) 妥布霉素设备洗液 (tobramycin equipment CV solutions)
 样品批号 (sample lot No.) 040801, 040802 040803
 棉签擦拭面积 (swabbing area) 0.0025 m²
 棉签浸泡液体积 (swab immersion solution volume) 0.01 L
 设备材质 (equipment material) 不锈钢 (stainless steel)

妥布霉素第一批生产后的清洁验证 (CV after 1st batch of tobramycin production)

测定所使用的注射用水 TOC 值 (TOC value of WFI used): 0.0665 mg•L⁻¹

清洁验证样品 (CV sample)	TOC 测定值 Ru (TOC measured value Ru) /mg•L ⁻¹	TOC 测定值 Ru 扣除注射用水背景值 (TOC measured value Ru corrected WFI background) /mg•L ⁻¹	对应妥布霉素的 浓度 (corresponding tobramycin concentration) /mg•L ⁻¹	允许残留限值 (allowable residue limit) /mg•L ⁻¹	清洁验证 是否合格 (pass CV test)
溶解罐、管路、储罐淋洗液 (rinse water of dissolution tank, piping and storage tank)	0.2473	0.1808	0.4279	0.5	是 (yes)
过滤器淋洗液 (rinse water of filter)	0.3318	0.2653	0.6279	1	是 (yes)
装盘容器器壁 (wall of plate filling container)	0.9952	0.9287	2.1980	25	是 (yes)
装盘容器底部 (bottom of plate filling container)	0.9572	0.8907	2.1081	25	是 (yes)
不锈钢盘盘角 (corner of stainless steel plate)	0.3741	0.3076	0.7280	1.3	是 (yes)
冻干机上部层板	0.3318	0.2653	0.6279	1	是 (yes)

(upper plate of freeze dryer)					
冻干机中部层板 (middle plate of freeze dryer)	0.3234	0.2569	0.6080	1	是 (yes)
冻干机下部层板 (lower plate of freeze dryer)	0.3403	0.2738	0.6480	1	是 (yes)
冻干机厢体顶部中间 (middle of top of freeze dryer tank)	0.3192	0.2527	0.5981	1	是 (yes)
冻干机厢体底部中间 (middle of bottom of freeze dryer tank)	0.3487	0.2822	0.6679	1	是 (yes)
冻干机厢体右下角 (lower right corner of freeze dryer tank)	0.3361	0.2696	0.6381	1	是 (yes)
冻干机厢体左上角 (upper left corner of freeze dryer tank)	0.3276	0.2611	0.6180	1	是 (yes)

妥布霉素第二批生产后的清洁验证 (CV after 2nd batch of tobramycin production)

测定所使用的注射用水 TOC 值 (TOC value of WFI used): $0.0633 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

清洁验证样品 (CV sample)	TOC 测定值 Ru (TOC measured value Ru) $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	TOC 测定值 Ru 扣除注射用水背景 值 (TOC measured value Ru corrected WFI background) $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	对应妥布霉素的 浓度 (corresponding tobramycin concentration) $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	允许残留限值 (allowable residue limit) $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	清洁验证 是否合格 (pass CV test)
溶解罐、管路、储罐淋洗液 (rinse water of dissolution tank, piping and storage tank)	0.2441	0.1808	0.4279	0.5	是 (yes)
过滤器淋洗液 (rinse water of filter)	0.3244	0.2611	0.6180	1	是 (yes)
装盘容器器壁 (wall of plate filling container)	0.9624	0.8991	2.1280	25	是 (yes)
装盘容器底部 (bottom of plate filling container)	0.9962	0.9329	2.2080	25	是 (yes)
不锈钢盘盘角 (corner of stainless steel plate)	0.3667	0.3034	0.7181	1.3	是 (yes)
冻干机上部层板 (upper plate of freeze dryer)	0.316	0.2527	0.5981	1	是 (yes)
冻干机中部层板 (middle plate of freeze dryer)	0.3371	0.2738	0.6480	1	是 (yes)
冻干机下部层板 (lower plate of freeze dryer)	0.3244	0.2611	0.6180	1	是 (yes)
冻干机厢体顶部中间 (middle of top of freeze dryer tank)	0.3202	0.2569	0.6080	1	是 (yes)
冻干机厢体底部中间 (middle of bottom of freeze dryer tank)	0.3286	0.2653	0.6279	1	是 (yes)
冻干机厢体右下角	0.3455	0.2822	0.6679	1	是 (yes)

(lower right corner of freeze dryer tank)					
冻干机厢体左上角 (upper left corner of freeze dryer tank)	0.3413	0.2780	0.6580	1	是 (yes)

妥布霉素第三批生产后的清洁验证 (CV after 3rd batch of tobramycin production)

测定所使用的注射用水 TOC 值 (TOC value of WFI used): 0.0672 mg•L⁻¹

清洁验证样品 (CV sample)	TOC 测定值 Ru (TOC measured value Ru) /mg•L ⁻¹	TOC 测定值 Ru 扣除注射用水背景值 (TOC measured value Ru corrected WFI background) /mg•L ⁻¹	对应妥布霉素的 浓度 (corresponding tobramycin concentration) /mg•L ⁻¹	允许残留限值 (allowable residue limit) /mg•L ⁻¹	清洁验证 是否合格 (pass CV test)
溶解罐、管路、储罐淋洗液 (rinse water of dissolution tank, piping and storage tank)	0.2523	0.1851	0.4381	0.5	是 (yes)
过滤器淋洗液 (rinse water of filter)	0.3368	0.2696	0.6381	1	是 (yes)
装盘容器器壁 (wall of plate filling container)	0.8903	0.8231	1.9481	25	是 (yes)
装盘容器底部 (bottom of plate filling container)	0.941	0.8738	2.0681	25	是 (yes)
不锈钢盘盘角 (corner of stainless steel plate)	0.3832	0.3160	0.7479	1.3	是 (yes)
冻干机上部层板 (upper plate of freeze dryer)	0.3311	0.2639	0.6246	1	是 (yes)
冻干机中部层板 (middle plate of freeze dryer)	0.3227	0.2555	0.6047	1	是 (yes)
冻干机下部层板 (lower plate of freeze dryer)	0.3480	0.2808	0.6646	1	是 (yes)
冻干机厢体顶部中间 (middle of top of freeze dryer tank)	0.3438	0.2766	0.6547	1	是 (yes)
冻干机厢体底部中间 (middle of bottom of freeze dryer tank)	0.3269	0.2597	0.6147	1	是 (yes)
冻干机厢体右下角 (lower right corner of freeze dryer tank)	0.3396	0.2724	0.6447	1	是 (yes)
冻干机厢体左上角 (upper left corner of freeze dryer tank)	0.3523	0.2851	0.6748	1	是 (yes)

从表 7 中, 可以看出, 清洁验证的操作, 对部分设备采用淋洗水法, 对部分设备采用擦拭法。清洁验证样品中妥布霉素的测定浓度, 均分别低于淋洗水法与擦拭法的允许残留限度, 表明清洁的效果符合要求。

3 结果讨论

本文建立了对妥布霉素生产设备的清洁验证标准操作规程。取样方法方面, 对容易擦拭且表面平整的设备, 采用棉签擦拭法; 对不易擦拭取样的设备及管路, 采用淋洗水法。对不同的取样方式, 根据美国 FDA 的建议限度, 建立了妥布霉素的允许残留限值。

对于清洁验证样品中妥布霉素的分析, 采用了总有机碳 TOC 方法。有效地解决了传统的气相色谱或

液相色谱法，对于低浓度（ $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ）以下水平的水样，分析灵敏度不足的问题。因为实际生产中，对设备进行清洗后，达到足够的清洁度时，清洁验证水样中的有机物含量非常低，一般都低于 1 ppm ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

清洁验证是中国 2011 年实施的药品 GMP 对制药企业的要求。我们建立了科学、合理、可行的清洁验证规程，确保妥布霉素的生产设备达到药品安全生产所需要的清洁度。

参考文献

- 1 Ministry of Health of the People's Republic of China (中华人民共和国卫生部), Good manufacturing practice (2010 Revision) (药品生产质量管理规范(2010 年修订)), Item 143 (第一百四十三条), P26
- 2 21 CFR 211.67 - Equipment cleaning and maintenance (21 美国联邦法规 CFR 211.67 – 设备清洁与维护), <http://cfr.vlex.com/vid/211-67-equipment-cleaning-maintenance-19708254>
- 3 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会), China Medical Science Press (中国医药科技出版社), China Pharmacopoeia 2010 (中国药典 2010 年), Appendix VIII R TOC method for pharmaceutical water (附录 VIII R 制药用水中总有机碳测定法); Purified Water (纯化水), Water for Injection (注射用水)
- 4 Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd (浙江海正药业股份有限公司), SOP-QC-1048 Tobramycin Analytical Procedure (妥布霉素检测操作规程)
- 5 Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd (浙江海正药业股份有限公司), SOP-QC-4066 Total organic carbon method (总有机碳检测法)
- 6 U.S. Food and Drug Administration, FDA (美国食品药品监督管理局 FDA), Guide to Inspection of Cleaning Validation (清洁验证检查指南), 7/93
- 7 Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd (浙江海正药业股份有限公司), SOP-VD-B041 Cleaning validation protocol of lyophilizer for tobramycin (妥布霉素冻干设备清洁验证方案)
- 8 China Food and Drug Administration (国家食品药品监督管理局), Chemical Industry Press (化学工业出版社), Guide to Drug Production Validation (药品生产验证指南) 2003, Chapter 3 Test method and cleaning validation (第三篇 检验方法和清洁验证), P205
- 9 GE Analytical Instruments (GE 公司分析仪器), GE Sievers 820 TOC Analyzer Operation and Maintenance Manual (GE Sievers 820 总有机碳 TOC 操作与维护手册)

联系方式:

第一作者:

陶雪筠

浙江海正药业股份有限公司质检中心

浙江省台州市椒江区外沙路 46 号, 318000

电话: 0576-8827873

手机: 13336762253

邮件: xjtao@hisunpharm.com

通信作者:

谷雪蕾

Paulina Gu

市场及应用经理

分析仪器部 GE 水处理技术

电话: (8610) 5822 3984, 58223700-684

传真: (8610) 8529 9137

手机: (86) 13601270580

Email: paulina.gu@ge.com

北京朝阳区光华路 1 号嘉里中心写字楼北楼 24 层 (100020)

通用电气 (中国) 有限公司