

生物制药设备清洁验证中复杂化合物的回收率

仔细选择清洁验证分析的仪器应是所有清洁验证主计划实施的一部分——总有机碳（TOC）的使用是几种清洁验证分析方法之一，以其氧化方式不同为特点，可使用燃烧、加热的过硫酸盐溶液或者紫外灯与过硫酸盐溶液结合进行氧化。苏伊士 Sievers® TOC 分析仪对具有高分子量与复杂化学结构的化合物具有较高的回收能力。

美国注射剂协会（PDA）列出了用于验证和监控清洁度的许多适用的物理、化学和生物技术，其中包括针对特殊分子的专属性试验以及许多非专属性试验。在查看性能比较和参考之后，PDA 特别提到：“典型的清洁验证研究可使用 pH、电导率、总有机碳、洗涤剂试验，若有多产品设备，则使用产品专用的方法进行试验。”同时应比较分析的精度、准确度、检测限、定量限、选择性、线性、范围和灵敏度。PDA 进行了许多科学研究以评测性能，如合规的各种通用方法：高效液相色谱（HPLC）、薄层色谱（TLC）、紫外光谱（UV）、总有机碳、酶联免疫吸附剂测定（ELISA）、胶体电泳和电导率等常用方法。药物残留、赋形剂、清洁剂残留和反应副产物都显示了各种方法的优点和缺点^[1-2]。

仔细选择清洁验证分析的仪器应是所有清洁验证主计划实施的一部分。TOC 的使用是几种清洁验证分析方法之一，以其氧化方式不同

表 1 BSA、CP、DS、Heme 和 HI 回收数据一览表

化合物	理论值 [碳] (ppm)	测定值 [碳] (ppm)	% 回收率
BSA	1.00	0.910	91
	2.00	1.88	94
	5.00	5.04	101
	7.50	8.16	109
CP	0.50	0.498	99.6
	1.00	0.93	93
	5.00	4.30	86
	10.00	8.89	88.9
	25.0	22.1	88.4
DS	50.0	43.6	87.2
	0.60	0.744	129
	1.20	1.57	131
	6.00	7.08	118
Heme	0.75	0.62	82.9
	1.50	1.33	88.9
	4.00	3.26	81.5
HI	0.0773	0.0562	73
	0.2970	0.2420	81
	0.8480	0.6430	76
	3.2700	3.3100	101
	19.61	21.5	109

为特点，可使用燃烧、加热的过硫酸盐溶液或者紫外灯与过硫酸盐溶液结合进行氧化^[3]。苏伊士 Sievers TOC 分析仪使用 UV/ 过硫酸盐氧化方法，并使用其专利的膜电导检测技术测定清洁验证样品的 TOC 浓度。

为了证明 Sievers TOC 分析仪对具有高分子量与复杂化学结构化合物的回收能力，本研究中的

这些化合物，通常被认为难于被非燃烧 / 红外检测的 TOC 仪器氧化和准确检测^[4]。

本研究检验牛血清白蛋白（BSA）、头孢他啶（CP）、葡聚糖硫酸酯（DS）、牛血红蛋白（Heme）和人胰岛素（HI）在多种浓度下的回收率。表1所示为回收数据一览表。

所研究化合物的平均回收率为 95.9%，范围在 73% ~ 129% 之

本文由苏伊士 Sievers 分析仪供稿。

PROCESS-Tip

* 更多信息请登录：
pharm.vogel.com.cn

* 反馈编码：210452

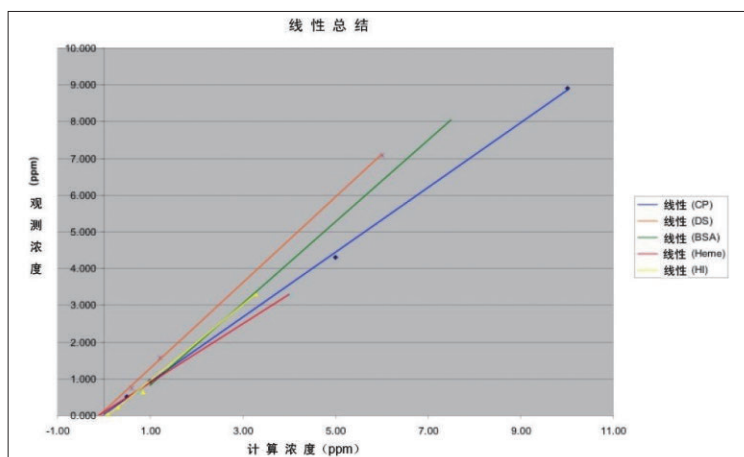


图 1 BSA、CP、DS、Heme 和 HI 的线性图

表 2：BSA、CP、DS、Heme 和 HI 的线性总结

化合物	曲线线性
BSA	$y=1.11x-0.31$ $R^2=0.997$
CP	$y=0.872x-0.081$ $R^2=0.999$
DS	$y=1.17x-0.106$ $R^2=0.999$
Heme	$y=0.082x+0.067$ $R^2=0.997$
HI	$y=1.03x-0.09$ $R^2=0.997$

材料和技术

试剂

(1) 6 M 的磷酸溶液：在含有 1 L 低 TOC 水的 5 L 容量瓶中加入 2 L 的 85% 的磷酸，并用低 TOC 水稀释到体积刻度。

(2) 15% 过硫酸铵溶液：在 5 L 低 TOC 水中溶解 750 g 过硫酸铵。

(3) 低 TOC 水。

材料

1. 牛血清白蛋白 (BSA)：

Fluka 已测定 @54.45% 碳。

2. 人胰岛素 (HI)：Fluka 已测定 @44.1% 碳。

3. 头孢他啶 (CP)：SmithKline Beecham 已测定 @41.5% 碳。

4. 葡聚糖硫酸酯 (DS)：Aldrich 已测定 @18.56% 碳。

5. 牛血红蛋白 (Heme)：Aldrich 已测定 @49.87% 碳。

6. 容量瓶和移液管（使用稀释的 Steris CIP 100TM 溶液清洗并使用低 TOC 水进行 20 次漂洗）。

仪器

1. Sievers 实验室总有机碳 TOC 分析仪。

2. Sievers 自动进样器。



图 2 操作人员使用苏伊士 Sievers M9 实验室 TOC 分析仪进行清洁验证

间。化合物回收率很好且在预料之中，然而葡聚糖硫酸酯的回收率范围在 118% ~ 131% 之间。在此研究时，尚未查清出现如此高回收率的因素，需对化合物进行进一步研究，以便找到可能的解释。值得注意的是，葡聚糖硫酸酯以及其他的所有化合物的回收率线性在浓度范围内非常好。这使得可通过应用相关的曲线方程方便地预测未知浓度的样品。图 1 所示为包含各化合物线性的图，而各公式记录在表 2 中。所研究各化合物的线性非常好。

当对这组生物制药行业常用的大分子进行回收时，Sievers TOC 分析仪表现良好。这表明 UV/过硫酸盐法可用于将化合物中所含的碳氧化为 CO_2 ，进行量化。许多制药相关设备已经成为非专属但高灵敏度的 TOC 分析用于清洁验证的很好案例，与其他方法相比，TOC 分析法检测限低 (ppb)、分析时间快且成本低，而且可以检测众多碳基残留。

【参考文献】

- [1]. Parenteral Drug Association, Cleaning and Cleaning Validation: A Biotechnology Perspective (注射剂协会，清洁和清洁验证：生物技术展望)，PDA, Bethesda, MD, 1996
- [2]. Smith J. M., "Selecting Analytical Methods to Detect Residue from Cleaning Compounds in Validated Process Systems," (选择分析方法以检测经验证的工艺系统中清洁化合物的残留)，Pharm. Technol., 17 (6), 88-98 (1993)
- [3]. Dolch G., Baffi R., Garnick R., Huang Y. F., Mar B., Matsuhira D., Niepelt B., Parra C., Stephan M., "A Total Organic Carbon Analysis Method for Validating Cleaning Between Products in Biopharmaceutical Manufacturing," (用于生物制药生产中清洁验证的总有机碳分析方法)，J. Parenteral Sci. Tech., 45 (1): 13-19, (1991)
- [4]. Agalloco J. "Points to consider in the Validation of Equipment Cleaning Procedures," (设备清洁步骤验证中的注意点)，J. Parenteral Sci. Tech., 46 (5): 163-168, (1992)
- Cooper D. W., Cleaning Aseptic Fill Areas., Pharm. Technol. 20(2): 52-60 (1996)