

• 药事管理 •

多品种共线的中药制剂清洁验证

王守斌¹, 肖传学^{2*}, 黄雪红², 刘春丽¹

1. 天津市市场和监督管理委员会 认证中心, 天津 300191

2. 天士力制药集团股份有限公司, 天津 300410

摘要: 以实例介绍中药制剂多品种共线的清洁验证, 从目标产品的选择、指标物质的确定、验证接受标准和分析方法 4 个方面阐述中药制剂的清洁验证。将中药制剂中的浸膏或浸膏干粉整体作为验证的标记成分, 并以全波长扫描的方法对该标记成分进行分析, 是一种科学、合理且经济的验证策略。

关键词: 中药制剂; 共线生产; 清洁验证; 全波长扫描; 标记成分

中图分类号: R288 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)10-1815-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.10.030

Cleaning validation of Chinese materia medica preparation manufactured in shared production line

WANG Shou-bin¹, XIAO Chuan-xue², HUANG Xue-hong², LIU Chun-li¹

1. Certification Center of Tianjin Market and Quality Supervision Administration, Tianjin 300191, China

2. Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: This paper illustrates the company's cleaning validation of many varieties of Chinese materia medica (CMM) preparation manufactured in the same production line by real case from four aspects such as selection of target product, confirmation of marker, validation of acceptance criteria, and analytical methods. It is a scientific, rational, and economic validation strategy to use CMM preparation extract or the whole extract powder as marker components for validation and determination of the marker components using UV-full wavelength scan method.

Key words: Chinese materia medica preparation; shared production line; cleaning validation; UV-full wavelength scan; marker component

洁净的药品生产设备是防止药品污染和交叉污染, 保证药品质量的关键要素之一。清洁验证是以文件的形式记录清洁程序, 能够持续有效地将残留和污染物降低至可接受水平的活动。相比于化学药, 中药制剂的化学成分复杂, 即使是单味中药所含的成分也几乎相当于一个化合物库, 这些化合物的种类繁多、结构相似、大小不一、极性与非极性相混合且并非都是活性化合物。因此, 对于中药制剂的清洁验证不能完全照搬化学药的清洁验证, 即选择活性化合物作为研究对象, 应该结合中药制剂本身的特性, 建立科学、合理的清洁验证手段。

本文以天士力制药集团股份有限公司的一条滴

丸制剂生产线为实例介绍中药制剂中的多产品共线的清洁验证, 主要从目标产品的选择、指标物质的确定、接受标准和分析方法 4 个方面进行论证。

1 目标产品的选择

该生产线主要用于小批量滴丸的制剂生产, 目前用于芪参益气滴丸 10 mg、复方丹参滴丸 10 mg、柴胡滴丸以及芪参益气滴丸 4 个产品规格的生产。该生产线共包含化料罐、滴丸机、离心机、擦丸机、平板震荡筛及离心式选丸机 6 类设备, 与产品直接接触的设备内表面积 (S_A) 之和为 290 875.86 cm²。

上述产品的生产工艺极为相似, 所用的清洁程序也相同, 故不必对每个产品分别进行验证, 可用

收稿日期: 2016-02-22

作者简介: 王守斌(1967—), 男, 高级工程师, 研究方向为药品生产质量管理规范。Tel: (022)60255158 Fax: (022)60255155 E-mail: wangshb@sina.com

*通信作者 肖传学(1974—), 男, 中级工程师, 研究方向为中药生产质量管理。Tel: (022)26736882 E-mail: xcx@tasly.com

风险评估的手段选择关键产品来验证清洁程序的有效性。根据中药制剂工艺和组方的特点,先定义 3 个风险组:(1)溶解组:产品中有难溶解成分的提取物或其他有明确疗效的活性成分;(2)药理组:产品中有已知的有效成分,或含有“精麻毒”类的组分;(3)配方组:产品中包含难清除的配方成分如油脂、色素或香料。

设定风险组后,可根据产品特性将其分配到一个或几个风险组,再从每个风险组中选择关键产品或者最差条件产品,即为该组中的目标产品。也可以直接从这 3 个风险纬度进行分析,以风险评估的手段选择最高风险分值的产品作为目标产品。本生产线的 4 个产品的基本数据见表 1,将这些产品按以上 3 个风险纬度[选择提取物的溶解性作为溶解组评价指标、毒理数据[LD₅₀值或无可见不良反应水平(no observed adverse effect level, NOAEL)值]作为药理组评价指标、是否含难清除配方作为配方组评价指标]进行综合评估选择目标产品,具体分析如下。

1.1 溶解组(A)

这 4 个产品所用提取物均为各产品对应药材采用水提醇沉工艺获得,其中水提工艺获得药效成分,醇沉工艺主要为去除杂质,从提取物的提取工艺来

看它们均属于易溶解类。鉴于复方丹参滴丸 10 mg 的原料有提取物和冰片 2 类,且冰片为难溶解的物质,故将该产品的风险分值定为 3,其他产品的分值定为 1(溶解组依据提取物的溶解性进行风险分级:易溶分值为 1、微溶分值为 2、难溶分值为 3)。

1.2 药理组(B)

这 4 个产品使用的药材均未涉及“精麻毒”类的组分,从已知组分的活性成分的临床前毒理研究资料中,将 LD₅₀ 值低于 10 g/kg 的风险分值定为 3, 10~100 g/kg 的风险分值定为 2, 高于 100 g/kg 的风险分值定为 1。在表 1 中,柴胡浸膏的毒理数据为最大耐受量(MTD)即不引起实验动物死亡的最大剂量或浓度,因此其 LD₅₀ 值必定大于 MTD 值。毒理数据源自芪参益气滴丸、复方丹参滴丸及柴胡滴丸的产品申报资料,其中芪参益气滴丸(10 mg)为外销产品规格,其药效成分同芪参益气滴丸,其毒理数据亦引自芪参益气滴丸产品申报资料。除冰片外所有的数据均大于 16.8 g/kg,远高于化学药的毒理学数据,从某种程度上也佐证中药在安全性上的优势。对于一些毒理数据不太全的古方,也可考虑从日服用剂量的角度进行风险等级的划分,日服用剂量越大,产品活性越小,风险分值越低。

表 1 4 产品的基本数据
Table 1 Basic data of four products

产品	提取物或明确疗效的活性成分	辅料组成	毒理数据/(g·kg ⁻¹)	批量(B)/kg	最低日治疗剂量(MTDD)/g	单位制剂质量(U _w)	日最多服用制剂数(D _d)	日可摄入量(ADI) ^[2] /mg
芪参益气滴丸	黄芪丹参浸膏	PEG 系列	LD ₅₀ 25.08	420	0.330 0	0.5 g/袋	3 袋	0.877 8
芪参益气滴丸(10 mg)	黄芪丹参浸膏	PEG 系列	LD ₅₀ 25.08	200	0.405 0	0.5 g/袋	3 袋	0.877 8
复方丹参滴丸(10 mg)	复方丹参滴丸浸膏、冰片	PEG 系列	浸膏 LD ₅₀ 16.8 冰片 LD ₅₀ 0.525 ^[1]	200	0.202 5	27 mg/粒	30 粒	0.588 0
柴胡滴丸	柴胡浸膏	PEG 系列	MTD 187.6	220	0.446 3	0.551 g/袋	3 袋	6.566 0

ADI=LD₅₀×70 kg/(2 000×1 000)

1.3 配方组(C)

配方组是以是否含有难清除的配方,这里专指辅料如色素、包衣剂等。这 4 个产品的辅料均为 PEG6000 系列,均易溶于水,依据风险分值确定为 1(无难清除配方的风险分值为 1、难清除配方的风险分值为 2、特难清除配方的风险分值为 3)。

3 个分组的风险分值低风险为 1 分、中风险为 2 分、高风险为 3 分,3 个纬度的风险评估的分值范

围为 1~27 分。上述 4 共线产品的风险得分见表 2,其中复方丹参滴丸(10 mg)的风险分值为 6 分,高于其他产品,故选择复方丹参滴丸(10 mg)作为该生产线清洁验证的目标产品。

2 指标物质的确定

对于化学药品而言,配方及工艺一经确定,各组分及其配比非常明确,应选择药物活性成分作为指标物质^[3]。中药制剂鉴于其组方的复杂性,其活

表 2 产品的风险分值
Table 2 Risk score of products

产品	A 组	B 组	C 组	风险分值 (A×B×C)
芪参益气滴丸	1	2	1	2
芪参益气滴丸 (10 mg)	1	2	1	2
复方丹参滴丸 (10 mg)	3	2	1	6
柴胡滴丸	1	1	1	1

性成分常为多种化合物组合,如美国 FDA 批准的植物处方药 Veregen® 为绿茶提取物的外用制剂,药物活性来自于儿茶素与其他相关化合物(没食子酸、咖啡因、可可碱等)的混合物^[4],具体选择哪一个化合物作为指标物质存在困难;也有一些明确有效成分或主要成分的中药制剂会选择含量测试项下的物质作为指标物质^[5],但在实际应用中这个指标物质在成品中所占的比例很小,如复方丹参滴丸(10 mg)中丹参素的量约为 0.4%,与一般化学药(如盐酸伐昔洛韦片中伐昔洛韦量为 15.2%)相差 2 个数量级。如在清洁验证中选择含量测试对象作为指标物质,一方面在产品清洁后指标物存量极少,建立相应的分析方法难度加大,不利于清洁验证的可执行性;另一方面仅选择含量测试对象作为指标物质也不能完全代表中药制剂的有效成分。鉴于中药制剂药效学的特性及风险的原则,可选择提取物或疗效明确的活性成分或二者作为指标物质。在本验证中,该生产线上的设备的清洗溶剂为热水及 75% 乙醇,对于溶于醇且易挥发的冰片而言,其残留量的风险较小,因此选择复方丹参滴丸浸膏整体作为指标物质,类似于化学药中的原料药(API),这样可以更加全面地代表该产品的有效成分,有效地评价清洁效果,也提高了清洁验证的可执行性。

3 接受标准

接受标准的制定应该基于风险和科学的原则。清洁验证通常涉及微生物残留、药物残留、清洁剂残留 3 个方面,本文仅从药物残留方面进行论述。在清洁验证的发展初期主要以浓度(1×10^{-6})和剂量 2 个标准来制定接受标准。在后期的发展过程中,行业中逐渐提出了毒理标准,这 3 个标准的计算方法及优缺点见表 3。在 2015 年 6 月 10 日中国食品药品监督管理局(CFDA)发布的关于《确认与验证》

附录中明确提出“活性物质残留限度标准应当基于毒理实验数据或毒理学文献资料的评估建立。”

鉴于中药的安全性及浓度(1×10^{-6})标准未考虑前后产品的活性、安全性及治疗剂量等药品相关的特性,以剂量标准和毒理标准进行计算,以生产复方丹参滴丸(10 mg)经清洗后,残留在后续产品中能允许的最小量作为清洁验证的接受标准,在按上述公式进行计算时,取样回收率均按 50% 进行计算,结果见表 4。确定其最低可接受限度是 $46.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。1993 年,Fourman 等^[6]指出大多数活性药物成分视觉能检出的限度是 $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,显然 $46.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 明显高于该报道值,而 GMP 的最低标准是目视无药物残留,据此计算值,也可说明中药制剂在安全性方面明显优于化学药。

表 3 药物残留计算方法及评价

Table 3 Methods in calculation of pharmaceutical ingredient residues and their evaluation

标准	公式	方法评价
浓度标准 (1×10^{-6})	$L_d = \frac{10 \times B}{S_A}$	未考虑前后生产产品的活性、安全性、治疗剂量等药品本身特性
剂量标准	$L_d = \frac{MTDD \times B}{S_A \times 1000 \times U_w \times D_d}$	仅考虑到药品的治疗剂量
毒理标准	$L_d = \frac{ADI \times B}{U_w \times D_d \times S_A}$	综合考虑药品的安全性及后续产品的治疗剂量

表 4 清洁验证的接受标准

Table 4 Acceptance criteria of cleaning validation

后加工产品	剂量标准 ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	毒理标准/($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)
芪参益气滴丸	97.5	283
芪参益气滴丸 (10 mg)	46.4	134
柴胡滴丸	46.3	134

4 分析方法

化学药的清洁验证样品常用其含量测定项下的分析方法即可满足分析需求,但对于中药而言,部分产品无含量控制项,即使有含量控制项的产品,被检测物质所占的比例也较小,使用含量测定项下的分析方法往往不能满足测试灵敏度的要求。

以提取物整体作为指标物质,专属的测试方法几乎无法满足对提取物的全成分分析。因此,非专

属的分析方法更适用于中药制剂的清洁验证样品分析。目前,非专属的分析方法有 UV、总有机碳(TOC)、电导率、pH 等,其中 TOC 在中药制剂的清洁验证中的应用也越来越多^[7],但 TOC 测试受外界环境影响大,假阳性属于大概率事件,且单个样品测试时间在 30 min 左右。

采用全波长扫描法即利用紫外可见分光光度计在 200~700 nm 的波段内,对样品进行扫描记录其图谱。该方法的应用是基于将中药作为一个整体进行残留测试,将被测物中对吸光度值有贡献的成分全部进行考虑,即将清洁后的擦拭样品配制成供试品溶液,根据清洁验证的接受标准将提取物配制成相应浓度的对照品溶液,利用紫外-可见分光光度计在 200~700 nm 对供试品溶液和对照品溶液进行全波长扫描,通过比较供试品溶液与对照品溶液在此区间的吸光度值来判定清洁测试样品是否符合要求。

全波长扫描法属于非专属测试方法,鉴于中药浸膏或干粉的复杂性,每个产品在 200~700 nm 下的扫描图谱均有各自特征图谱。在方法学验证中进行检出限测试时,用复方丹参滴丸浸膏配制 28.86、57.71、115.42、230.84、288.55、461.68 μg/mL 6 个不同质量浓度梯度的溶液,进行全波长扫描,根据图谱选择 4 个特征波长:268 nm(波谷处)、281 nm(定量测定波长及最大吸收峰)、372 nm(波峰处)、400 nm(近可见区)进行线性回归,测试数据见表 5。其线性拟合情况如下: $Y=0.003\ 2\ X+0.010\ 8$ ($R^2=1.000\ 0$)、 $Y=0.004\ 4\ X+0.003\ 1$ ($R^2=0.999\ 8$)、 $Y=0.000\ 6\ X-0.031\ 6$ ($R^2=0.999\ 5$)、 $Y=0.000\ 3\ X-$

表 5 特征吸收波长下的吸光度值

Table 5 A values under characteristic absorption wavelength

质量浓度/(μg·mL ⁻¹)	268 nm	281 nm	372 nm	400 nm
28.855	0.104	0.136	-0.016	-0.030
57.710	0.190	0.260	0.001	-0.020
115.420	0.385	0.515	0.037	0.001
230.840	0.753	1.012	0.108	0.036
288.850	0.936	1.258	0.139	0.054
461.680	1.489	2.050	0.238	0.107

0.037 5 ($R^2=0.999\ 3$),各波长段均具有良好的线性关系。基于响应值标准差和标准曲线斜率法(3.3 SD/K, SD 为空白溶液吸光值的标准差, K 为上述波长段下的线性关系的斜率)^[8],配制 3 份空白样品,进行 15 次扫描,进行计算,4 波段下空白溶液的标准差分别为 0.000 478、0.000 387、0.000 16、0.000 167,根据 3.3 SD/K 计算选择最大的值作为该方法的检出限,即 1.84 μg/mL。

5 验证结果

该清洁验证的接受标准为 46.3 μg/cm²,而清洁验证擦拭取样面积通常为 100 cm²,供试品溶液常将此棉签溶于 10 mL 纯化水中配制成供试品溶液。但当配制 461.68 μg/mL 对照品溶液时,该浓度下呈现为棕色,具有极高的吸光度值,不适于紫外可见分光光度法,故将对照品溶液稀释至 230.84、115.42、57.71、28.885 μg/mL 4 个均呈无色的系列溶液,结果见表 6,样品吸收曲线明显低于稀释倍率为 15 倍的最低质量浓度曲线(28.885 μg/mL)。

表 6 各取样点药物残留汇总

Table 6 Summary of drug residues in each sampling point

设备名称	取样点	验证结果(接受标准不得高于 46.3 μg/cm ²)
乳化搅拌机	放料口	供试品溶液的吸光度值低于对照品溶液的吸光度值(<2.9 μg/cm ²)
滴丸机	滴锅	供试品溶液的吸光度值低于对照品溶液的吸光度值(<2.9 μg/cm ²)
	收丸滤网	供试品溶液的吸光度值低于对照品溶液的吸光度值(<2.9 μg/cm ²)
高效包衣机	转笼	供试品溶液的吸光度值低于对照品溶液的吸光度值(<2.9 μg/cm ²)
振荡筛	振荡筛出丸口	供试品溶液的吸光度值低于对照品溶液的吸光度值(<2.9 μg/cm ²)
金属检测机	有机玻璃通道	供试品溶液的吸光度值低于对照品溶液的吸光度值(<2.9 μg/cm ²)

表 6 中的数据仅能得到一个低于某一个数值的测试结果。鉴于中药的安全性,其计算所得清洁验证的限度值往往比较高,直接肉眼判断即可得到符合验证标准的结论,但为进一步研究残留的实际水平,可将对照品溶液进行逐级稀释,得到实际残留

的区间范围。

6 结语

清洁验证其目的是证实清洁流程符合预期的标准,在这一点上中药制剂和化学药是一致的。中药制剂组分的多样性、复杂性使其清洁验证不像化

学药能明确地找到指标物质及建立指标物质的分析方法。

中药制剂的多产品共线的清洁验证可采用矩阵法,从溶解组、药理组及配方组进行分组评估,首先确定目标产品,这样可以大大减少清洁验证的数量。

将中药制剂中的浸膏或浸膏干粉整体作为“API”,以浸膏或浸膏干粉作为清洁验证考察的指标物质,并基于此目标物质制定清洁验证的药物残留的接受标准,一方面全面评价了清洁效果,另一方面也提高了清洁验证的可执行性。

基于中药制剂将浸膏或浸膏干粉整体作为“API”的理念,非专属的全波长扫描法能全面、系统地反映清洁后的药物残留水平是否低于预期制定的接受标准,而且该方法可实现快速高效地完成样品测试。

参考文献

- [1] 王 怡. 天然冰片组方的抗心肌缺血作用及量效关系研究 [D]. 天津: 天津中医学院, 2002.
- [2] 王守斌, 聂 杰. 浅析药品生产设备的清洁验证 [J]. 天津药学, 2014, 26(5): 72-76.
- [3] 平 丽, 林春琴. 盐酸替罗非班清洁验证残留量测定方法的研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(11): 31.
- [4] 何 毅. 中药质量一致性评价模式的建立与应用——国际化探索研究 [D]. 天津: 天津大学, 2011.
- [5] 刘 利, 周 凡. 建立板蓝根颗粒清洁验证 HPLC 法 [J]. 北方药学, 2014, 11(11): 10-13.
- [6] Fourman G L, Mullen M V. “Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations” [J]. *Pharm Technol*, 1993, 17(4): 54-60.
- [7] 彭 菲, 叶正良, 杨亚宁, 等. 对中药注射剂生产设备清洁验证的探讨 [J]. 中国药事, 2012, 26(10): 1131-1136.
- [8] 中国药典 [S]. 四部. 2015.