

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.03.020

# 卡贝缩宫素注射液容器密封性方法学验证

姚 振, 卢志明, 余涛涛, 杨 靖

(杭州澳亚生物技术股份有限公司, 浙江 杭州 310018)

**摘要:**目的 采用色水法对卡贝缩宫素注射液的容器密封性进行方法学验证。方法 以10%亚甲基蓝为示踪剂,采用目视观察法比较不同质量浓度亚甲基蓝溶液的颜色,采用紫外-可见分光光度(UV-Vis)法测定吸光度,对上述2种方法的灵敏度进行考察。结果 在664 nm波长处测定亚甲基蓝溶液的吸光度,亚甲基蓝质量浓度在0.126 1~5.045 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与吸光度线性关系良好( $r=0.999\ 6, n=7$ ),采用UV-Vis法能被检测到的最低泄漏体积为0.05  $\mu\text{L}$ ,采用目视观察法能被检测到的最低泄漏体积为0.005  $\mu\text{L}$ 。方法学验证中,采用目视观察法的供试品溶液无色,采用UV-Vis法的供试品溶液无紫外吸收。结论 所建立的色水法操作简便,专属性 and 灵敏度均良好,能有效测试卡贝缩宫素注射液的容器密封性。

**关键词:**卡贝缩宫素注射液;容器密封性;亚甲基蓝;紫外-可见分光光度法;色水法

中图分类号:R917;R984

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)03-0084-03

## Methodology Validation for Container Closure of Carbetocin Injection

YAO Zhen, LU Zhiming, YU Taotao, YANG Jing

(Hangzhou Ausia Biological Technology Company, LTD, Hangzhou, Zhejiang, China 310018)

**Abstract: Objective** To verify the container closure of Carbetocin Injection by the dye ingress method. **Methods** With the 10% methylene blue as the tracer, the colors of methylene blue solutions with different mass concentrations were compared by visual observation, and the absorbance was determined by the ultraviolet - visible (UV - Vis) spectrophotometry. The sensitivity of the above two methods was investigated. **Results** The absorbance of methylene blue solution was determined at 664 nm, and the mass concentration of methylene blue showed a good linear relationship with absorbance in the range of 0.126 1 - 5.045 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $r=0.999\ 6, n=7$ ). The lowest leakage volume detected by the UV - Vis method was 0.05  $\mu\text{L}$ , while the lowest leakage volume detected by the visual observation was 0.005  $\mu\text{L}$ . In the methodological validation, the test solution using the visual observation method was colorless, and the test solution using UV - Vis method had no UV absorption. **Conclusion** The dye ingress method is simple, specific and sensitive, which can effectively test the container closure of Carbetocin Injection.

**Key words:** Carbetocin Injection; container closure; methylene blue; ultraviolet - visible spectrophotometry; dye ingress

卡贝缩宫素是一种合成的具有激动剂性质的长效九肽类似物,通过与子宫平滑肌的催产素受体结合,促使子宫平滑肌收缩压迫子宫肌层血管,从而达到止血目的,临床用于子宫收缩乏力和产后出血<sup>[1-2]</sup>。无菌产品的容器密封系统须能防止微生物侵入,但目前国内鲜有报道注射剂容器密封性的研究。2020年10月21日,国家药品监督管理局药品审评中心发布了《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南(试行)》(简称《指南》),要求注射剂应根据产品特点开展包装系统密封性研究,且其密封性测试方法应经过验证<sup>[3]</sup>。由于无菌检查不足以说明注射剂包装系统密封的完整性,应进行容器密封性验证,并需对方法的灵敏度加以考察。本研究中参考文献[3-4],采用色水法(亚甲基蓝溶液法)对卡贝缩宫素注射液容器的密封性进行方法学验

证。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

XSE205DU型电子天平(梅特勒-托利多仪器<上海>有限公司,精度为0.01 mg);MFY-05S型密封性测试仪(济南三泉中石实验仪器有限公司);YB-2型澄明度检测仪(天大天发科技有限公司);UV-2600型紫外可见分光光度计(岛津仪器<苏州>有限公司)。

#### 1.2 试药

卡贝缩宫素注射液(杭州澳亚生物技术股份有限公司,批号为19060211,规格为每支1 mL:100  $\mu\text{g}$ );亚甲基蓝三水合物(国药集团化学试剂有限公司,批号为20190625,生物染色剂级别)。

第一作者:姚振,男,硕士,工程师,研究方向为药品研发及分析方法验证,(电子信箱)yaozhen420984@163.com。

2 方法与结果

2.1 方法

2.1.1 目视观察法比较溶液颜色

溶液制备:取亚甲基蓝三水合物 10 g,加 100 mL 水溶解,混匀,即得 10% 亚甲基蓝溶液。取样品 10 支,倒置,放入含有 10% 亚甲基蓝溶液的容器中,置密封性测试仪中,抽真空至真空度为 25 kPa,维持 30 min,将真空装置恢复至常压,再放置 30 min,取出,用水冲洗瓶外壁,即得供试品溶液。取亚甲基蓝三水合物适量,精密称定,用水溶解并稀释成每 1 mL 中含有 0.5 μg 的溶液,即得亚甲基蓝对照溶液(相当于每支样品能检测到 0.005 μL 泄漏体积的 10% 亚甲基蓝溶液)。

方法:取供试品溶液与亚甲基蓝对照溶液,在澄明度检测仪下观察,供试品溶液颜色均不得比亚甲基蓝对照溶液更深。

2.1.2 紫外-可见分光光度(UV-Vis)法测定吸光度

溶液制备:操作同 2.1.1 项下“取亚甲基蓝三水合物 10 g …… 用水冲洗瓶外壁”,开启西林瓶,移取 0.5 mL,置 20 mL 容量瓶中,用水稀释并定容,摇匀,即得供试品溶液。取亚甲基蓝三水合物 20 mg,精密称定,置 100 mL 容量瓶中,用水稀释并定容,摇匀,即得质量浓度为 0.2 mg/mL 的亚甲基蓝贮备液。取样品 1 支,加入亚甲基蓝贮备液 50 μL,混匀,取 0.5 mL,置 20 mL 容量瓶中,用水稀释并定容,摇匀,即得阳性对照溶液(相当于每支样品能检测到 0.1 μL 泄漏体积的 10% 亚甲基蓝溶液)。

方法:以水作为空白溶剂,取供试品溶液和阳性对照溶液各适量,照 UV-Vis 法<sup>[5]</sup>,于最大波长处测定吸光度,供试品溶液测定的吸光度值应不大于阳性对照溶液的吸光度值。

2.2 方法学验证

2.2.1 最大吸收波长选择

取亚甲基蓝三水合物 50.45 mg,精密称定,逐级稀释,即得质量浓度为 0.005 mg/mL 的亚甲基蓝溶液。以水作为空白溶剂,将上述亚甲基蓝溶液置 400~700 nm 波长范围内扫描,结果见图 1。可见,亚甲基蓝于 663.8 nm 波长处有明显吸收峰,吸光度为 0.940。故选择 664 nm 作为测定波长。

2.2.2 线性关系考察

取亚甲基蓝三水合物 50.45 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,用水溶解并定容,摇匀,即得质量浓度为 1 mg/mL 的亚甲基蓝贮备液。精密量取亚甲基蓝贮备液 5 mL,置 100 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即

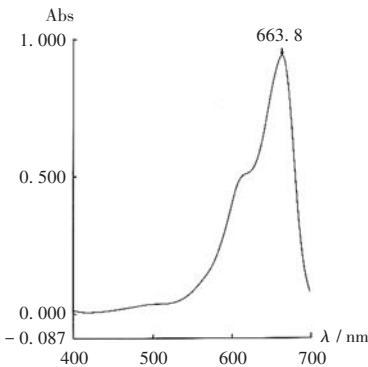


图1 亚甲基蓝溶液 UV-Vis 扫描图谱(400~700 nm)  
Fig. 1 UV-Vis spectrogram of methylene blue solution(400 - 700 nm)

得质量浓度为 0.05 mg/mL 的线性母液。将线性母液用水稀释为质量浓度分别为 0.126 1, 0.252 3, 0.504 5, 0.630 6, 1.261 0, 2.523 0, 5.045 0 μg/mL 的系列溶液,作为线性溶液。分别吸取线性溶液,以水作为空白对照,于 664 nm 波长处测定吸光度,以线性溶液的质量浓度( $X$ , mg/mL)为横坐标、吸光度( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得线性回归方程  $Y = 0.189\ 3X - 0.007$  ( $r = 0.999\ 6, n = 7$ ),同时记录各线性溶液的颜色。详见表 1。可见,亚甲基蓝质量浓度在 0.126 1~5.045 0 μg/mL 范围内与吸光度线性关系良好;各线性溶液的颜色随质量浓度的增加由浅蓝色变至深蓝色,其中线性溶液 1 的颜色不易观察(蓝色极浅),故最终选择线性溶液 3 作为对照溶液。

表1 亚甲基蓝线性溶液吸光度与溶液颜色

| Tab. 1 Absorbance of methylene blue linear solution and the solution color |             |       |                |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------|-------|----------------|
| 线性溶液编号                                                                     | 质量浓度(μg/mL) | 吸光度   | 溶液颜色           |
| 1                                                                          | 0.126 1     | 0.020 | 呈极浅的蓝色,不易观察    |
| 2                                                                          | 0.252 3     | 0.038 | 呈浅蓝色,略深于线性溶液 1 |
| 3                                                                          | 0.504 5     | 0.077 | 呈目视可见的蓝色       |
| 4                                                                          | 0.630 6     | 0.109 | 呈蓝色,比线性溶液 3 更深 |
| 5                                                                          | 1.261 0     | 0.238 | 呈蓝色,比线性溶液 4 更深 |
| 6                                                                          | 2.523 0     | 0.487 | 呈蓝色,比线性溶液 5 更深 |
| 7                                                                          | 5.045 0     | 0.940 | 呈蓝色,比线性溶液 6 更深 |

2.2.3 检测限确定

以线性溶液 1 的吸光度为指标进行考察,推测最低检测限,配制相应溶液并检测。根据最终确定的最低检测限,按公式[能被检测到的最低泄漏量(μL) =  $(C_{\text{检测限}} \times V_{\text{稀释倍数}}) / C_{\text{亚甲基蓝}} \times 1\ 000$ ]推算出能被检测到的最低泄漏量。采用 UV-Vis 法,根据线性最低浓度,结合样品配制方法,计算得到能被检测到的最低泄漏量为相当于每支样品能检测到 0.05 μL 泄漏体积的 10% 亚甲基蓝溶液。采用目视观察法确定能被检测到

的最低泄露量相当于每支样品能检测到0.005  $\mu\text{L}$  泄漏体积的10%亚甲基蓝溶液。

#### 2.2.4 专属性试验

目视观察法比较溶液颜色:以水作为稀释剂(空白溶剂)。取亚甲基蓝三水合物100.0123 g,精密称定,置1000 mL容量瓶中,用水溶解并定容,混匀,即得10%亚甲基蓝溶液。取样品1支,移取0.5 mL,置20 mL容量瓶中,用水定容,摇匀,即得供试品溶液。取亚甲基蓝三水合物20.1 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,用水溶解并定容,摇匀,即得亚甲基蓝贮备液a。精密量取亚甲基蓝贮备液a 5 mL,置100 mL容量瓶中,用水稀释并定容,摇匀,即得亚甲基蓝贮备液b。精密量取亚甲基蓝贮备液b 0.5 mL,置100 mL容量瓶中,用水稀释并定容,摇匀,即得亚甲基蓝对照溶液。取样品1支,加入亚甲基蓝贮备液b 50  $\mu\text{L}$ ,混匀,即得加样供试品溶液。分别吸取上述3种溶液,按2.1.1项下目视观察法观察颜色,结果供试品溶液无色,亚甲基蓝对照溶液可见蓝色,加样供试品溶液颜色不浅于亚甲基蓝对照溶液,表明方法专属性良好。

UV-Vis法:取样品1支,加入目视观察法中亚甲基蓝贮备液a 50  $\mu\text{L}$ ,混匀,移取0.5 mL,置20 mL容量瓶中,用水稀释并定容,摇匀,即得阳性对照溶液(相当于每支样品能检测到0.1  $\mu\text{L}$  泄漏体积的10%亚甲基蓝溶液)。分别吸取目视观察法中供试品溶液、阳性对照溶液,以水作为空白溶剂,于664 nm波长处测定吸光度,结果供试品溶液吸光度为-0.001,无紫外吸收;阳性对照溶液吸光度为0.030,高于线性溶液最低质量浓度的吸光度0.020。表明方法专属性良好。

#### 3 讨论

紫外-可见分光光度计测定供试品溶液的吸光度时,供试品需稀释40倍,而目视观察法不经稀释,直接目视观察,操作简便,专属性和灵敏度均符合检测要求,故最终选用目视观察法比较溶液颜色,以判断亚甲基蓝溶液是否泄漏到样品瓶。

化学药品注射剂密封性检查方法分为确定性方法和概率性方法两大类,确定性方法是基于系列可预见的泄漏现象<sup>[6]</sup>。常用方法包括高压放电法、质量提取法、压力衰减法、真空衰减法<sup>[7-8]</sup>等;概率性方法包括微生物挑战法、色水法、气泡释放法等,以及激光透射法<sup>[9]</sup>、

近红外光谱法<sup>[10]</sup>等。色水法要求供试品必须能承受浸没,一般适用于液体制剂,常用的

示踪剂为10%亚甲基蓝溶液,操作更简单,成本更低廉,检测周期更短<sup>[11]</sup>。卡贝缩宫素注射液为小容量注射液,其密封组件包括西林瓶、胶塞、铝盖,能耐受一定负压,适合采用色水法检测其密封性。但为满足环保需求,色水法测试所用染色溶液须经适当处理后再排放,为可靠地清除染色物的残留,还须不断优化清洁方式<sup>[4]</sup>。容器密封系统和轧盖参数会影响产品质量和容器密封性<sup>[12]</sup>,企业应根据注射剂自身特点和包装特性,同时结合检查方法的适用性和灵敏度,选择适宜的密封性检查方法<sup>[3]</sup>。

#### 参考文献

- [1] 周晓玲,李根,高羽,等.卡贝缩宫素注射液产科应用合理性分析[J].中国药业,2020,29(14):24-26.
- [2] 李智,郝辰璐,陈彦竹,等.卡贝缩宫素对高危产妇剖宫产术中及术后影响的研究[J].中国药物评价,2020,37(3):215-218.
- [3] 国家药品监督管理局药品审评中心.关于发布《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南(试行)》和《化学药品注射剂生产所用的塑料组件系统相容性研究技术指南(试行)》的通告(2020年第33号)[EB/OL].(2020-10-21)[2021-01-04].<https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/8a4f9f16844fb6d617f8e8ed59485c1d>.
- [4] 国家食品药品监督管理局药品认证管理中心.药品GMP指南·无菌药品[M].北京:中国医药科技出版社,2011:257-263.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:38-39.
- [6] 陈江,王俊苏,关天横,等.注射剂包装密封完整性检测技术研究进展[J].中国药业,2021,30(2):5-11.
- [7] 王冬伟,张磊,张祥龙,等.真空衰减法测试西林瓶药品包装的密封完整性[J].中国药事,2020,34(5):589-595.
- [8] 朱衍志,杨森,丁志慧,等.高压静电检漏法对口服轮状病毒活疫苗包装无损密封性检查[J].微生物学免疫学进展,2017,45(1):42-45.
- [9] 于中东,张宇嘉,杨兆航,等.冻干制品密封性激光透射方式检测标准的制定及验证[J].中国生物制品学杂志,2018,31(11):1253-1256.
- [10] 张琪,冯艳春,宋丹青,等.利用近红外一致性检验方法验证药品标准物质包装的密闭性[J].药物分析杂志,2016,36(2):363-368.
- [11] 张艳慧.无菌制剂容器密封性测试方法[J].化工设计通讯,2018,44(8):124.
- [12] MATHAES R, MAHLER HC, ROGGO Y, et al. Influence of Different Container Closure Systems and Capping Process Parameters on Product Quality and Container Closure Integrity (CCI) in GMP Drug Product Manufacturing[J]. PDA J Pharm Sci and Tech, 2016, 70(2): 109-119.

(收稿日期:2021-03-22;修回日期:2021-07-21)

本栏目

重庆药友制药有限责任公司

协办