

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 686—2020

消毒剂与抗菌剂中抗病毒药物检测方法 与评价要求

Analytical method and evaluation requirements of antiviral drugs in disinfectant and
antibacterial and bacteriostatic agents

2020 - 07 - 20 发布

2021 - 02 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位：北京市疾病预防控制中心、中国计量科学研究院、北京市理化分析测试中心、中国食品药品检定研究院、江苏省疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心、山东省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：丁晓静、王萍、杨奕、高运华、赵新颖、勾新磊、牛夏梦、李莉、李硕、李洁、赵珊、徐燕、李放、张流波、李炎、崔树玉、苏冠民。

消毒剂与抗菌剂中抗病毒药物检测方法与评价要求

1 范围

本标准规定了消毒剂与抗菌剂中抗病毒药物的检测方法和评价要求。

本标准适用于消毒剂与抗菌剂中更昔洛韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦和利巴韦林及其它抗病毒药物的测定和评价。

2 规范性引用文件

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

中华人民共和国药典

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抗病毒药物 antiviral drugs

用于预防和治疗病毒感染的药物。

4 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦的检测方法

4.1 高效液相色谱法

4.1.1 原理

以乙酸甲醇混合溶液超声提取试样中的更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦,提取液经离心、过滤, C₁₈ 色谱柱分离,紫外检测器或二极管阵列检测器检测,外标法定量。

4.1.2 试剂和材料

除另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1.2.1 试剂

4.1.2.1.1 甲醇(CH₃OH):色谱纯。

4.1.2.1.2 冰乙酸(CH₃COOH)。

4.1.2.1.3 乙酸铵(CH₃COONH₄)。

4.1.2.2 试剂配制

4.1.2.2.1 样品提取溶液：分别移取甲醇 80 mL 和冰乙酸 10 mL，置于试剂瓶中，加入水 10 mL，混匀。

4.1.2.2.2 乙酸铵乙酸缓冲溶液：称取乙酸铵 0.77 g，置于试剂瓶中，加入水 400 mL 溶解，再加入冰乙酸 2 mL，加水至 500 mL，混匀。

4.1.2.3 标准品

更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦纯度均大于 97%或经国家认证并授予证书的标准物质，其它相关信息参见附录 A。

4.1.2.4 标准溶液配制

4.1.2.4.1 标准储备液：准确称取更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦各 25.0 mg，分别置于 50 mL 容量瓶中，加入样品提取溶液约 40 mL，超声 10 min，溶解，用样品提取溶液定容至刻度，配制成质量浓度均为 500 mg/L 的标准储备液。冷藏保存，有效期为 3 个月。

4.1.2.4.2 混合标准中间液：分别移取更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦标准储备液，用样品提取溶液稀释成质量浓度均为 50 mg/L 的混合标准中间液。冷藏保存，有效期为 1 个月。

4.1.2.4.3 混合标准系列溶液：取不同体积的混合标准中间液，用样品提取溶液稀释成混合标准系列溶液，如 0.5 mg/L、2.5 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L。临用现配。

4.1.2.5 材料

4.1.2.5.1 有机系滤膜：孔径为 0.45 μm 。

4.1.2.5.2 玻璃珠： $\Phi < 5 \text{ mm}$ 。

4.1.3 仪器和设备

4.1.3.1 高效液相色谱仪：带二极管阵列检测器或紫外检测器。

4.1.3.2 分析天平：最小分度值为 0.1 mg。

4.1.3.3 离心机： $\geq 3\,000 \text{ r/min}$ 。

4.1.3.4 涡旋混合器。

4.1.3.5 超声波清洗器。

4.1.4 分析步骤

4.1.4.1 样品前处理

4.1.4.1.1 液体剂型

称取 0.5 g（精确至 1 mg）试样于 10 mL 具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，涡旋混匀 1 min，超声 10 min，经滤膜过滤，备用。

4.1.4.1.2 其它剂型

称取 0.5 g（精确至 1 mg）试样于 10 mL 具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，加入 1 至 2 颗玻璃珠，涡旋混匀至溶液呈均匀状态，超声 10 min，离心 5 min，取上清液经滤膜过滤，备用。

4.1.4.2 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件如下：

a) 色谱柱： C_{18} 柱（柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm ），或相当者；

- b) 流动相：A 相为甲醇，B 相为乙酸铵乙酸缓冲溶液；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 柱温：30℃；
- e) 进样体积：5 μL；
- f) 检测波长：254 nm；
- g) 梯度洗脱程序：见附录B.1。

4.1.4.3 标准曲线的制作

将混合标准系列溶液，按浓度由低到高依次注入高效液相色谱仪，以色谱峰的峰面积为纵坐标，与其对应的质量浓度为横坐标，绘制峰面积—质量浓度（mg/L）标准曲线。更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液的高效液相色谱图参见附录C.1。

4.1.4.4 测定

将处理好的试样溶液注入高效液相色谱仪，根据标准曲线计算试样溶液中目标化合物的质量浓度。

4.1.4.5 结果计算和表述

试样中目标化合物的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X ——试样中目标化合物的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ ——标准曲线计算的试样溶液中目标化合物的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V ——定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——称样量，单位为克（g）。

结果保留三位有效数字。

4.1.4.6 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。本方法回收率和精密度见附录D。

4.1.4.7 检出限和定量限

当取样量为0.5 g，定容体积为10 mL，本方法的检出限和定量限：更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦的检出限均为2.0 mg/kg；定量限均为7.0 mg/kg。

4.2 胶束电动毛细管色谱法

4.2.1 原理

以含有十二烷基硫酸钠的样品提取溶液提取试样中的更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦，用胶束电动毛细管色谱分离模式进行分离，紫外检测器或二极管阵列检测器检测，外标法定量。

4.2.2 试剂和材料

除另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.2.2.1 试剂

4.2.2.1.1 十二烷基硫酸钠 (SDS, $C_{12}H_{25}SO_4Na$)。

4.2.2.1.2 硼砂 ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)。

4.2.2.1.3 无水磷酸二氢钠 (NaH_2PO_4)。

4.2.2.1.4 氢氧化钠 ($NaOH$)。

4.2.2.2 试剂配制

4.2.2.2.1 分离缓冲溶液：称取 SDS 2.019 g、硼砂 0.191 g 和无水磷酸二氢钠 0.150 g，置于同一具塞带刻度塑料离心管中，加水至 50 mL 刻度，超声溶解、混匀，配制成含有 140 mmol/L SDS、10 mmol/L 硼砂和 25 mmol/L 磷酸二氢钠的分离缓冲溶液。

4.2.2.2.2 样品提取溶液：将分离缓冲溶液用水稀释 10 倍，配制成样品提取溶液。

4.2.2.2.3 氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠 2 g，加入预先装有 40 mL 水的塑料离心管中，振摇溶解，再加水至 50 mL 刻度、混匀，配制成 1 mol/L 氢氧化钠溶液。

4.2.2.3 标准品

同 4.1.2.3。

4.2.2.4 标准溶液配制

4.2.2.4.1 标准储备液：准确称取更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦各 10.0 mg，分别置于 10 mL 容量瓶中，加入样品提取溶液约 5 mL，振摇（或超声）溶解，用样品提取溶液定容至刻度，配制成质量浓度均为 1000 mg/L 的标准储备液。临用现配。

4.2.2.4.2 混合标准中间液：分别移取更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦标准储备液，用样品提取溶液稀释成质量浓度均为 100 mg/L 的混合标准中间液。临用现配。

4.2.2.4.3 混合标准系列溶液：取不同体积的混合标准中间液，用样品提取溶液稀释成混合标准系列溶液，如 1.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、40.0 mg/L。临用现配。

4.2.2.5 材料

同 4.1.2.5。

4.2.3 仪器和设备

4.2.3.1 毛细管电泳仪：带二极管阵列检测器或紫外检测器。

4.2.3.2 未涂层熔融石英毛细管：内径 50 μm ，外径 375 μm 。

4.2.3.3 同 4.1.3.2。

4.2.3.4 同 4.1.3.4。

4.2.3.5 同 4.1.3.5。

4.2.4 分析步骤

4.2.4.1 样品预处理

4.2.4.1.1 液体剂型

称取 0.5 g（精确至 1 mg）试样于 10 mL 具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，涡旋混匀 1 min，超声 10 min，备用。

4.2.4.1.2 其它剂型

称取0.5 g（精确至1 mg）试样于10 mL具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至10 mL刻度，加入1至2颗玻璃珠，涡旋混匀至溶液呈均匀状态，超声10 min，备用。

4.2.4.2 毛细管电泳参考条件

毛细管电泳参考条件如下：

- a) 分离柱：未涂层熔融石英毛细管，302 mm（有效长度为200 mm）；
- b) 电压：10 kV；
- c) 进样压力：3.448 kPa；
- d) 进样时间：4 s（进样体积约7.9 nL）；
- e) 检测波长：254 nm；
- f) 清洗程序：新装毛细管在使用前分别用NaOH溶液冲洗20 min，水冲洗5 min，分离缓冲溶液冲洗5 min。每次进样前依次用NaOH溶液冲洗1.5 min，水冲洗1.5 min，分离缓冲溶液冲洗1.5 min。

4.2.4.3 标准曲线的制作

将混合标准系列溶液，按浓度由低到高依次注入毛细管电泳仪，以色谱峰的校正峰面积（峰面积除以迁移时间）为纵坐标，与其对应的质量浓度为横坐标，绘制校正峰面积—质量浓度（mg/L）标准曲线。更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液的毛细管电泳图参见附录E.1。

4.2.4.4 测定

将处理好的试样溶液注入毛细管电泳仪，根据标准曲线计算试样溶液中目标化合物的质量浓度。

4.2.4.5 结果计算和表述

试样中目标化合物的含量按式（1）计算。

结果保留三位有效数字。

4.2.4.6 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

4.2.4.7 检出限和定量限

当取样量为0.5 g，定容体积为10 mL，本方法的检出限和定量限：更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦的检出限均为4.0 mg/kg；定量限均为14.0 mg/kg。

4.3 超高效液相色谱-串联质谱确证方法

4.3.1 原理

以乙酸甲醇混合溶液超声提取试样中的更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦，经离心、过滤，用超高效液相色谱-串联质谱仪进行确证。

4.3.2 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682中规定的一级水。

4.3.2.1 试剂

4.3.2.1.1 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

4.3.2.1.2 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

4.3.2.1.3 冰乙酸 (CH_3COOH)。

4.3.2.2 试剂配制

4.3.2.2.1 同 4.1.2.2.1。

4.3.2.2.2 0.1 %甲酸甲醇溶液：100 mL 甲醇中加入 0.1 mL 甲酸，混匀。

4.3.2.2.3 0.1 %甲酸水溶液：100 mL 水中加入 0.1 mL 甲酸，混匀。

4.3.2.3 标准品

同 4.1.2.3。

4.3.2.4 标准溶液配制

4.3.2.4.1 同 4.1.2.4.1。

4.3.2.4.2 混合标准中间液：分别移取更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦标准储备液，用水释成质量浓度均为 5 mg/L 的混合标准中间液。冷藏保存，有效期为 1 个月。

4.3.2.4.3 混合标准应用液：将混合标准中间液用水稀释 100 倍，配成质量浓度均为 50 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准应用液。临用现配。

4.3.2.5 材料

4.3.2.5.1 有机系滤膜：孔径为 0.22 μm 。

4.3.2.5.2 同 4.1.2.5.2。

4.3.3 仪器和设备

4.3.3.1 超高效液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

4.3.3.2 同 4.1.3.2。

4.3.3.3 同 4.1.3.3。

4.3.3.4 同 4.1.3.4。

4.3.3.5 同 4.1.3.5。

4.3.4 分析步骤

4.3.4.1 样品前处理

4.3.4.1.1 液体剂型

称取 0.5 g（精确至 1 mg）试样于 10 mL 具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，涡旋混匀 1 min，超声 10 min，经滤膜过滤，滤液用水稀释至少 10 倍，混匀，备用。

4.3.4.1.2 其它剂型

称取 0.5 g（精确至 1 mg）试样于 10 mL 具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，加入 1 至 2 颗玻璃珠，涡旋混匀至溶液呈均匀状态，超声 10 min，离心 5 min，上清液经滤膜过滤，将滤液用水稀释至少 10 倍，混匀，备用。

4.3.4.2 超高效液相色谱参考条件

超高效液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱： C_{18} （柱长 50 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.7 μm ），或相当者；
- b) 流动相：A 相为 0.1 %甲酸甲醇溶液；B 相为 0.1 %甲酸水溶液；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：40℃；
- e) 进样量：5 μL ；
- f) 梯度洗脱程序：见附录 B.2。

4.3.4.3 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 电离方式：ESI+；
- b) 脱溶剂气温度：350℃；
- c) 干燥气流量：550 L/h；
- d) 碰撞气流量：0.15 mL/min；
- e) 毛细管电压：3.5 kV；
- f) 监测模式：多反应监测（MRM）模式；
- g) 其它质谱参数：见附录 F.1。

4.3.4.4 混合标准应用液测定

将均为 50 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准应用液注入超高效液相色谱-串联质谱仪。质谱色谱图参见附录 C.2。

4.3.4.5 确证

将处理好的试样溶液注入超高效液相色谱-串联质谱仪。在相同测试条件下，试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在 $\pm 2.5\%$ 之内，且检测到的离子相对丰度，应与浓度相当的标准溶液中相对离子丰度一致。其相对丰度比偏差应符合表1要求。

表1 相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 (A, %)	>50	20<A≤50	10<A≤20	≤10
允许的最大偏差 (%)	±20	±25	±30	±50

4.3.4.6 检出限

当取样量为 0.5 g，定容体积为 10 mL，本方法的检出限：更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦均为 20.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

5 利巴韦林的检测方法

5.1 电渗流反转的毛细管电泳法

5.1.1 原理

以含有硼酸和硼砂的样品提取溶液提取试样中的利巴韦林，用电渗流反转的区带电泳分离模式进行

分离，紫外检测器或二极管阵列检测器检测，外标法定量。

5.1.2 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

5.1.2.1 试剂

5.1.2.1.1 硼酸 (H_3BO_3)。

5.1.2.1.2 硼砂 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)。

5.1.2.1.3 十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB, $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$)。

5.1.2.1.4 氢氧化钠 (NaOH)。

5.1.2.2 试剂配制

5.1.2.2.1 分离缓冲溶液：称取硼酸 0.309 g、硼砂 1.144 g 和 CTAB 0.009 g，置于同一具塞带刻度塑料离心管中，加水约 40 mL 振摇溶解，再加水至 50 mL 刻度，混匀，配制成含有 100 mmol/L 硼酸、60 mmol/L 硼砂和 0.5 mmol/L CTAB 的分离缓冲溶液。

5.1.2.2.2 样品提取溶液：将分离缓冲溶液用水稀释 10 倍，配制成样品提取溶液。

5.1.2.2.3 同 4.2.2.2.3。

5.1.2.3 标准品

利巴韦林纯度大于97%或经过国家认证并授予证书的标准物质，其它相关信息参见附录A。

5.1.2.4 标准溶液配制

5.1.2.4.1 标准储备液：准确称取利巴韦林 10.0 mg，置于 10 mL 容量瓶中，加入水约 5 mL 振摇溶解，再用水定容至刻度，配制成质量浓度为 1000 mg/L 的标准储备液。冷藏保存，有效期为 3 个月。

5.1.2.4.2 标准中间液：将利巴韦林标准储备液用样品提取溶液稀释 10 倍，配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准中间液。临用现配。

5.1.2.4.3 标准系列溶液：取不同体积的利巴韦林标准中间液，用样品提取溶液稀释成混合标准系列溶液，如 1.5 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L。临用现配。

5.1.2.5 材料

同4.1.2.5.2。

5.1.3 仪器和设备

5.1.3.1 毛细管电泳仪：带二极管阵列检测器或紫外检测器。

5.1.3.2 未涂层熔融石英毛细管：内径 50 μm ，外径 375 μm 。

5.1.3.3 同 4.1.3.2。

5.1.3.4 同 4.1.3.4。

5.1.3.5 同 4.1.3.5。

5.1.4 分析步骤

5.1.4.1 样品前处理

5.1.4.1.1 液体剂型

称取0.5 g（精确至1 mg）试样于10 mL具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至10 mL刻度，涡旋混匀1 min，超声10 min，备用。

5.1.4.1.2 膏体剂型

称取0.2 g（精确至1 mg）试样于10 mL具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至10 mL刻度，加入1至2颗玻璃珠，涡旋混匀至溶液呈均匀状态，超声10 min，备用。

5.1.4.1.3 其它剂型

称取0.5 g（精确至1 mg）试样于10 mL具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至10 mL刻度，加入1至2颗玻璃珠，涡旋混匀至溶液呈均匀状态，超声10 min，备用。

5.1.4.2 毛细管电泳参考条件：

- a) 未涂层熔融石英毛细管，700 mm（有效长度为600 mm）；
- b) 电压：29 kV；
- c) 进样压力：3.448 kPa；
- d) 进样时间：20 s（进样体积约17 nL）；
- e) 检测波长：214 nm；
- f) 清洗程序：新装毛细管在使用前分别用NaOH溶液冲洗20 min，水冲洗5 min，分离缓冲溶液冲洗5 min。每次进样前依次用NaOH冲洗1.5 min，水冲洗1.5 min，分离缓冲溶液冲洗1.5 min。

5.1.4.3 标准曲线的制作

将标准系列溶液，按浓度由低到高依次注入毛细管电泳仪，以色谱峰的校正峰面积（峰面积除以迁移时间）为纵坐标，与其对应的质量浓度为横坐标，绘制校正峰面积—质量浓度（mg/L）标准曲线。利巴韦林标准溶液的毛细管电泳图参见附录E.2。

5.1.4.4 测定

将处理好的试样溶液注入毛细管电泳仪，根据标准曲线计算试样溶液中利巴韦林的质量浓度。

5.1.4.5 结果计算和表述

样品中利巴韦林的含量按式（1）计算。

结果保留三位有效数字。

5.1.4.6 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

5.1.4.7 检出限和定量限

膏体试样：当取样量为0.20 g，定容体积为10 mL，本方法的检出限为20 mg/kg，定量限为70 mg/kg；
其它试样：当取样量为0.50 g，定容体积为10 mL，本方法的检出限为8 mg/kg，定量限为30 mg/kg。

5.2 超高效液相色谱-串联质谱确证方法

5.2.1 原理

以甲醇水混合溶液超声提取试样中的利巴韦林，经C₁₈-固相萃取柱净化，用超高效液相色谱-串联

质谱仪进行确证。

5.2.2 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

5.2.2.1 试剂

5.2.2.1.1 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

5.2.2.1.2 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

5.2.2.1.3 乙腈 (CH_3CN)：色谱纯。

5.2.2.2 试剂配制

5.2.2.2.1 样品提取溶液：将甲醇 10 mL 与水 90 mL 混匀。

5.2.2.2.2 0.1%甲酸水溶液：往 100 mL 水中加入甲酸 0.1 mL，混匀。

5.2.2.3 标准品

同 5.1.2.3。

5.2.2.4 标准溶液配制

5.2.2.4.1 标准储备液：准确称取利巴韦林 10.0 mg，置于 10 mL 容量瓶中，加入约 5 mL 水振摇溶解，用水定容至刻度，配制成质量浓度为 1000 mg/L 的标准储备液，冷藏保存，有效期为 3 个月。

5.2.2.4.2 标准中间液：将利巴韦林标准储备液，用样品提取溶液稀释成质量浓度为 5 mg/L 的标准中间液。冷藏保存，有效期为 1 个月。

5.2.2.4.3 标准应用液：将利巴韦林标准中间液用样品提取液稀释 100 倍，配成质量浓度均为 50 $\mu\text{g/L}$ 的标准应用液。临用现配。

5.2.2.5 材料

5.2.2.5.1 C_{18} 固相萃取小柱：3 mL，200 mg。

5.2.2.5.2 同 4.3.2.5.1。

5.2.2.5.3 同 4.1.2.5.2。

5.2.3 仪器和设备

5.2.3.1 超高效液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源 (ESI)。

5.2.3.2 同 4.1.3.2。

5.2.3.3 同 4.1.3.3。

5.2.3.4 同 4.1.3.4。

5.2.3.5 同 4.1.3.5。

5.2.4 分析步骤

5.2.4.1 样品前处理

5.2.4.1.1 液体剂型

称取 0.5 g (精确至 1 mg) 试样于 10 mL 具塞带刻度离心管 (比色管) 中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，涡旋混匀 1 min，超声 10 min，经滤膜过滤，滤液用水稀释至少 10 倍，混匀，过 C_{18} -固

相萃取小柱，滤液备用。

5.2.4.1.2 其它剂型

称取 0.5 g（精确至 1 mg）试样于 10 mL 具塞带刻度离心管（比色管）中，加入样品提取溶液至 10 mL 刻度，加入 1 至 2 颗玻璃珠，涡旋混匀至溶液呈均匀状态，超声 10 min，离心 5 min，上清液经滤膜过滤，将滤液用水稀释至少 10 倍，混匀，过 C₁₈-固相萃取小柱，滤液备用。

5.2.4.2 超高效液相色谱参考条件

超高效液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C₁₈（柱长 100 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.8 μm），或相当者；
- b) 流动相：A 相为乙腈；B 相为 0.1 %甲酸水溶液；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：40℃；
- e) 进样量：5 μL；
- f) 梯度洗脱程序：见附录 B.3。

5.2.4.3 质谱参考条件：

- a) 电离方式：ESI+；
- b) 脱溶剂气温度：350℃；
- c) 干燥气流量：550 L/h；
- d) 碰撞气流量：0.15 mL/min；
- e) 毛细管电压：3.5 kV；
- f) 监测模式：多反应监测（MRM）模式；
- g) 其它质谱参数：见附录 F.2。

5.2.4.4 标准应用液测定

将 50 μg/L 混合标准应用液注入超高效液相色谱-串联质谱仪。质谱色谱图参见附录 C.3。

5.2.4.4.1 确证

同 4.3.4.5。

5.2.4.5 检出限

当取样量为 0.5 g，定容体积为 10 mL，检出限为 20.0 μg/kg。

6 其它抗病毒药物的检测方法

可参照《中华人民共和国药典》方法并进行方法验证后执行。

《中华人民共和国药典》未涵盖的检测方法，可参考文献报道的方法，并通过认证后方可应用。

7 评价要求

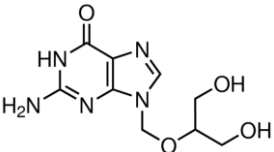
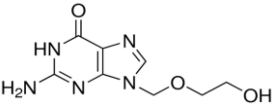
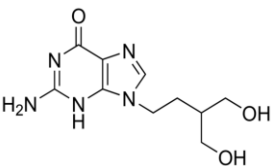
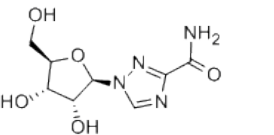
7.1 在消毒剂与抗抑菌剂中不得添加抗病毒药物。

- 7.2 更昔洛韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦和利巴韦林在消毒剂与抗抑菌剂中的含量或总量均不应超过 100 mg/kg。
- 7.3 其它抗病毒药物在消毒剂与抗抑菌剂中含量或总量不应超过外用药物最小规格的 1%。

附 录 A
(资料性附录)
标准品相关信息

更昔洛韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦和利巴韦林标准品的相关信息见表A. 1。

表A. 1 更昔洛韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦和利巴韦林标准品的相关信息

中文名称	英文名称	分子式	CAS 序号	化学结构式
更昔洛韦	Ganciclovir	$C_9H_{13}N_5O_4$	82410-32-0	
阿昔洛韦	Acyclovir	$C_8H_{11}N_5O_3$	59277-89-3	
喷昔洛韦	Penciclovir	$C_{10}H_{15}N_5O_3$	39809-25-1	
利巴韦林	Ribavirin	$C_8H_{12}N_4O_5$	36791-04-5	

附 录 B
(规范性附录)
色谱梯度洗脱程序

B.1 阿昔洛韦、更昔洛韦和喷昔洛韦高效液相色谱法的梯度洗脱程序见表B.1。

表 B.1 阿昔洛韦、更昔洛韦和喷昔洛韦的高效液相色谱法的梯度洗脱程序

时间 min	A 相 %	B 相 %
0.0	7.0	93.0
13.0	7.0	93.0
14.0	100.0	0.0
16.0	100.0	0.0
16.1	7.0	93.0
19.0	7.0	93.0

B.2 阿昔洛韦、更昔洛韦和喷昔洛韦的超高效液相色谱-串联质谱确证法的梯度洗脱程序见表B.2。

表 B.2 阿昔洛韦、更昔洛韦和喷昔洛韦的超高效液相色谱-串联质谱确证法的梯度洗脱程序

时间 min	A 相 %	B 相 %
0.0	7.0	93.0
3.6	7.0	93.0
4.0	100.0	0.0
7.0	100.0	0.0
7.1	7.0	93.0
10.0	7.0	93.0

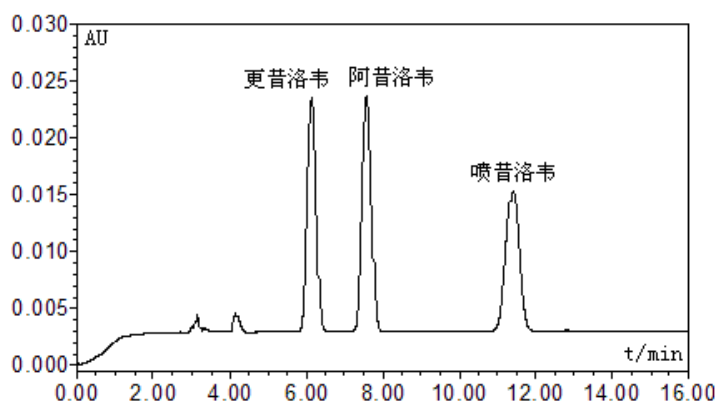
B.3 利巴韦林的超高效液相色谱-串联质谱确证法的梯度洗脱程序见表B.3。

表 B.3 利巴韦林的超高效液相色谱-串联质谱确证法的梯度洗脱程序

时间 min	A 相 %	B 相 %
0.0	1.0	99.0
2.6	1.0	99.0
3.0	100.0	0.0
6.0	100.0	0.0
6.1	1.0	99.0
9.0	1.0	99.0

附 录 C
(资料性附录)
色谱图

C.1 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液 20 mg/L 的高效液相色谱图见图 C.1



图C.1 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液的色谱图

C.2 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液 50 $\mu\text{g/L}$ 的超高效液相色谱-串联质谱色谱图见图 C.2

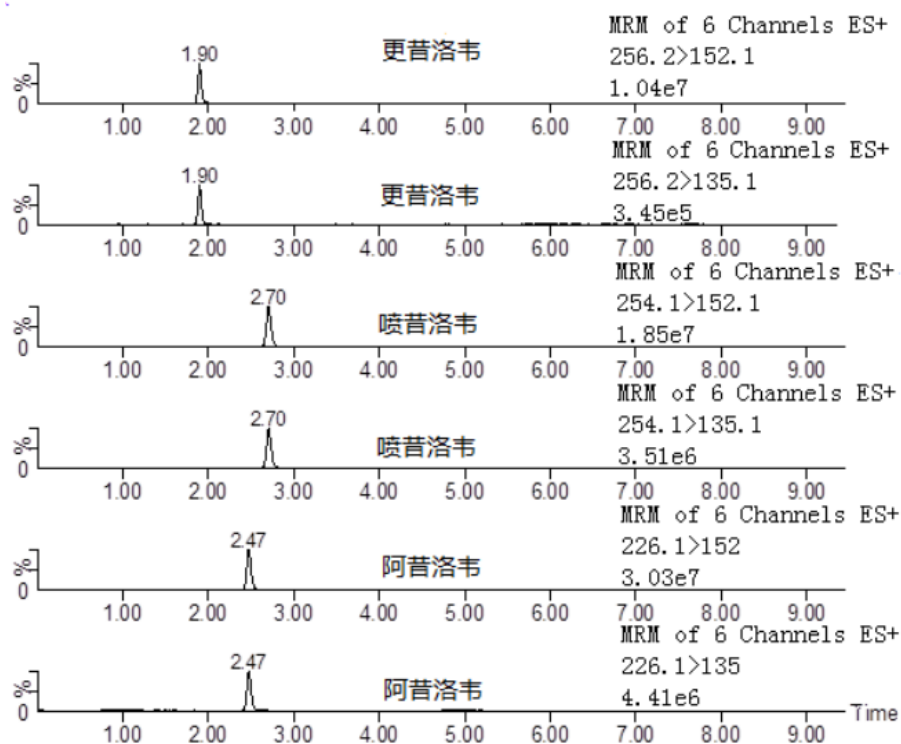


图 C.2 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液的超高效液相色谱-串联质谱色谱图

C.3 利巴韦林标准溶液 50 $\mu\text{g/L}$ 的超高效液相色谱-串联质谱色谱图见图 C.3

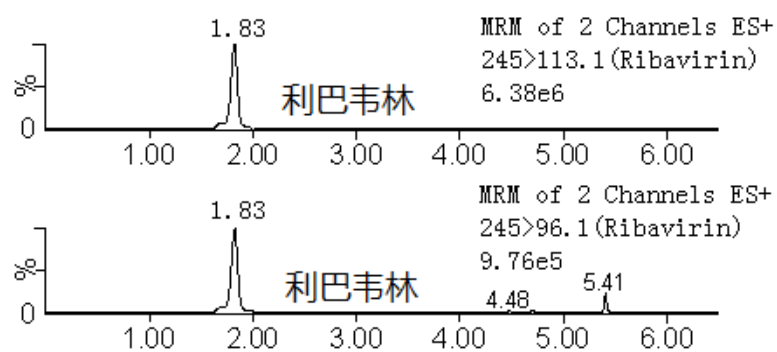


图 C.3 利巴韦林标准溶液的超高效液相色谱-串联质谱色谱图

附 录 D
(规范性附录)
回收率与精密度

更昔洛韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦和利巴韦林的回收率与精密度见表D.1。

表 D.1 更昔洛韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦和利巴韦林的回收率与精密度

方法	抗病毒药物	添加标准浓度 mg/L	回收率范围 %	精密度 %
高效液相色谱法	更昔洛韦	1	84.5~111.7	4.6
		5	88.8~111.3	4.3
		20	94.8~113.8	2.4
	阿昔洛韦	1	83.6~111.3	8.8
		5	90.0~105.6	4.7
		20	95.3~106.1	2.5
	喷昔洛韦	1	88.3~113.8	6.7
		5	92.1~109.3	4.8
		20	95.9~110.7	2.2
毛细管电泳法	更昔洛韦	2	73.5~106.4	6.4
		20	80.6~104.2	7.4
		40	81.7~102.5	4.2
	阿昔洛韦	2	74.8~124.6	7.6
		20	81.9~102.8	7.5
		40	82.8~100.8	3.2
	喷昔洛韦	2	92.9~114.3	7.8
		20	79.1~101.4	7.5
		40	88.8~101.7	2.9
毛细管电泳法	利巴韦林	2	92.2~102.0	4.7
		10	84.1~105.9	4.8
		20	85.1~105.3	2.3

附 录 E
(资料性附录)
电泳图

E.1 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液 20 mg/L 的电泳图见图E. 1。

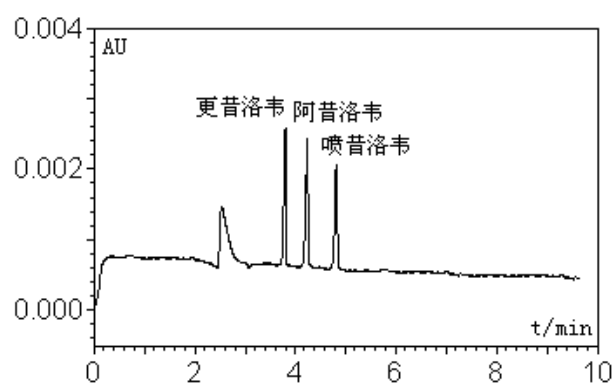


图 E. 1 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦混合标准溶液的电泳图

E.2 利巴韦林标准溶液 5 mg/L 的电泳图见图E. 2。

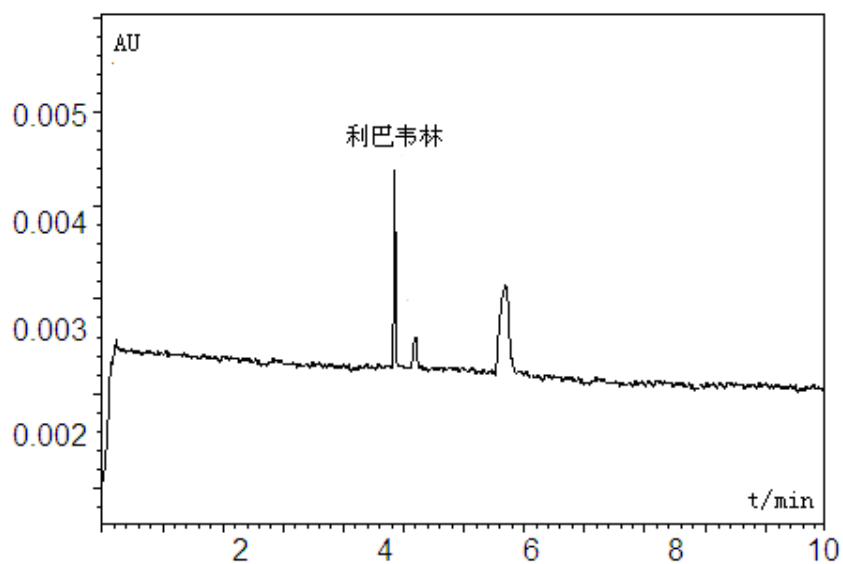


图 E. 2 利巴韦林标准溶液的电泳图

附 录 F
(资料性附录)
其它质谱参数

F.1 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦的超高效液相色谱-串联质谱法的其它质谱参数见表F.1。

表F.1 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦的超高效液相色谱-串联质谱法的其它质谱参数

化合物	母离子	子离子	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
更昔洛韦	256.2	152.1	15	13
		135.1	15	20
阿昔洛韦	226.1	152.1	20	18
		135.1	20	25
喷昔洛韦	254.1	152.1	21	25
		135.1	21	15

F.2 利巴韦林的超高效液相色谱-串联质谱法的其它质谱参数见表F.2。

表F.2 更昔洛韦、阿昔洛韦和喷昔洛韦的超高效液相色谱-串联质谱法的其它质谱参数

化合物	母离子	子离子	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
利巴韦林	245.0	113.1	18	30
		96.1	18	10