

指导原则编号：【H】GPH5-1

化学药物质量控制分析方法验证 技术指导原则

二〇〇五年三月

目 录

一、概述	1
二、方法验证的一般原则	2
三、方法验证涉及到的三个主要方面	2
(一) 需要验证的检测项目	2
(二) 分析方法	3
(三) 验证内容	3
四、方法验证的具体内容	3
(一) 专属性	3
1、鉴别反应	4
2、杂质检查	4
3、含量测定	4
(二) 线性	5
(三) 范围	5
1、含量测定	6
2、制剂含量均匀度	6
3、溶出度或释放度	6
4、杂质	6
(四) 准确度	6
1、含量测定	7
2、杂质定量试验	7
(五) 精密度	7
1、重复性	8
2、中间精密度	8
3、重现性	8

(六) 检测限	8
1、直观法	8
2、信噪比法	9
(七) 定量限	9
1、直观法	9
2、信噪比法	9
(八) 耐用性	10
(九) 系统适用性试验	10
五、方法再验证	11
六、方法验证的评价	12
(一) 有关方法验证评价的一般考虑	12
(二) 方法验证的整体性和系统性	12
七、参考文献	13
八、著者	13

化学药物质量控制分析方法验证技术指导原则

一、概述

保证药品安全、有效、质量可控是药品研发和评价应遵循的基本原则，其中，对药品进行质量控制是保证药品安全有效的基础和前提。为达到控制质量的目的，需要多角度、多层面来控制药品质量，也就是说要对药物进行多个项目测试，来全面考察药品质量。一般地，每一测试项目可选用不同的分析方法，为使测试结果准确、可靠，必须对所采用的分析方法的科学性、准确性和可行性进行验证，以充分表明分析方法符合测试项目的目的和要求，这就是通常所说的对方法进行验证。

方法验证的目的是判断采用的分析方法是否科学、合理，是否能有效控制药品的内在质量。从本质上讲，方法验证就是根据检测项目的要求，预先设置一定的验证内容，并通过设计合理的试验来验证所采用的分析方法是否符合检测项目的要求。

方法验证在分析方法建立过程中具有重要的作用，并成为质量研究和质量控制的组成部分。只有经过验证的分析方法才能用于控制药品质量，因此方法验证是制订质量标准的基础。方法验证是药物研究过程中的重要内容。

本指导原则重点探讨方法验证的本质，将分析方法验证的要求与所要达到的目的结合起来进行系统和规律性的阐述，重点阐述如何科学合理地进行论证方案的设计。

本指导原则主要包括方法验证的一般原则、方法验证涉及的三个主要方

面、方法验证的具体内容、对方法验证的评价等内容。

本原则与其他相关技术指导原则一起构成较完整的质量控制指导原则。随着我国新药研发水平的不断提高，对方法验证的认识也会不断深入，本指导原则将会逐步完善和修订。

由于生物制品和中药的特殊性，本原则主要适用于化学药品。

二、方法验证的一般原则

原则上每个检测项目采用的分析方法，均需要进行方法验证。

方法验证的内容应根据检测项目的要求，结合所采用分析方法的特点确定。

同一分析方法用于不同的检测项目会有不同的验证要求。例如，采用高效液相色谱法用于制剂的鉴别和杂质定量试验应进行不同要求的方法验证，前者重点要求验证专属性，而后者重点要求验证专属性、准确度、定量限。

三、方法验证涉及的三个主要方面

（一）需要验证的检测项目

检测项目是为控制药品质量，保证安全有效而设定的测试项目。根据检测项目的设定目的和验证内容的不同要求，本指导原则将需验证的检测项目分为鉴别、杂质检查（限度试验、定量试验）、定量测定（含量测定、溶出度、释放度等）、其他特定检测项目等四类。

鉴别的目的在于判定被分析物是目标化合物，而非其它物质，用于鉴别的分析方法要求具有较强的专属性。

杂质检查主要用于控制主成分以外的杂质，如有机杂质、无机杂质等。

杂质检查可分为限度试验和定量试验两种情况。用于限度试验的分析方法验证侧重专属性和检测限。用于定量试验的分析方法验证强调专属性、准确度和定量限。

定量测定包括含量测定、制剂的溶出度测定等，由于此类项目对准确性要求较高，故所采用的分析方法要求具有一定的专属性、准确度和线性。

其他特定检测项目包括粒径分布、旋光度、分子量分布等，由于这些检测项目的要求与鉴别、杂质检查、定量测定等有所不同，对于这些项目的分析方法验证应有不同的要求。

(二) 分析方法

本指导原则所指分析方法是为完成上述各检测项目而设定和建立的测试方法，一般包括分析方法原理、仪器及仪器参数、试剂、系统适用性试验、供试品溶液制备、对照品溶液制备、测定、计算及测试结果的报告等。

测试方法可采用化学分析方法和仪器分析方法。这些方法各有特点，同一测试方法可用于不同的检测项目，但验证内容可不相同。

(三) 验证内容

验证内容包括方法的专属性、线性、范围、准确度、精密度、检测限、定量限、耐用性和系统适用性等。

四、方法验证的具体内容

(一) 专属性

专属性系指在其他成分（如杂质、降解物、辅料等）可能存在下，采用的分析方法能够正确鉴定、检出被分析物质的特性。

通常，鉴别、杂质检查、含量测定方法中均应考察其专属性。如采用的

方法不够专属，应采用多个方法予以补充。

1、鉴别反应

鉴别试验应确证被分析物符合其特征。专属性试验要求证明能与可能共存的物质或结构相似化合物区分，需确证含被分析物的供试品呈正反应，而不含被测成分的阴性对照呈负反应，结构相似或组分中的有关化合物也应呈负反应。

2、杂质检查

作为纯度检查，所采用的分析方法应确保可检出被分析物中杂质的含量，如有关物质、重金属、有机溶剂等。因此杂质检查要求分析方法有一定的专属性。

在杂质可获得的情况下，可向供试品中加入一定量的杂质，证明杂质与共存物质能得到分离和检出，并具适当的准确度与精密度。

在杂质或降解产物不能获得的情况下，专属性可通过与另一种已证明合理但分离或检测原理不同、或具较强分辨能力的方法进行结果比较来确定。或将供试品用强光照射，高温，高湿，酸、碱水解及氧化的方法进行破坏（制剂应考虑辅料的影响），比较破坏前后检出的杂质个数和量。必要时可采用二极管阵列检测和质谱检测，进行色谱峰纯度检查。

3、含量测定

含量测定目的是得到供试品中被分析物的含量或效价的准确结果。

在杂质可获得的情况下，对于主成分含量测定可在供试品中加入杂质或辅料，考察测定结果是否受干扰，并与未加杂质和辅料的供试品比较测定结果。

在杂质或降解产物不能获得的情况下，可采用另一个经验证的或药典方法进行比较，对比两种方法测定的结果。也可采用破坏性试验（强光照射，高温，高湿，酸、碱水解及氧化），得到含有杂质或降解产物的试样，用两种方法进行含量测定，比较测定结果。必要时进行色谱峰纯度检查，证明含量测定成分的色谱峰中不包含其他成分。

（二）线性

线性系指在设计的测定范围内，检测结果与供试品中被分析物的浓度（量）直接呈线性关系的程度。

线性是定量测定的基础，涉及定量测定的项目，如杂质定量试验和含量测定均需要验证线性。

应在设计的测定范围内测定线性关系。可用一贮备液经精密稀释，或分别精密称样，制备一系列被测物质浓度系列进行测定，至少制备 5 个浓度。以测得的响应信号作为被测物浓度的函数作图，观察是否呈线性，用最小二乘法进行线性回归。

必要时，响应信号可经数学转换，再进行线性回归计算，并说明依据。

（三）范围

范围系指能够达到一定的准确度、精密度和线性，测试方法适用的试样中被分析物高低限浓度或量的区间。

范围是规定值，在试验研究开始前应确定验证的范围和试验方法。可以采用符合要求的原料药配制成不同的浓度，按照相应的测定方法进行试验。

范围通常用与分析方法的测试结果相同的单位（如百分浓度）表达。涉

及到定量测定的检测项目均需要对范围进行验证，如含量测定、含量均匀度、溶出度或释放度、杂质定量试验等。

范围应根据剂型和（或）检测项目的要求确定。

1、含量测定

范围应为测试浓度的 80%~100%或更宽。

2、制剂含量均匀度

范围应为测试浓度的 70%~130%。根据剂型特点，如气雾剂、喷雾剂，必要时，范围可适当放宽。

3、溶出度或释放度

对于溶出度，范围应为限度的±20%；如规定限度范围，则应为下限的-20%至上限的+20%。

对于释放度，如规定限度范围为，从 1 小时后为 20%至 24 小时后为 90%，则验证范围应为 0~110%。

4、杂质

杂质测定时，范围应根据初步实测结果，拟订出规定限度的±20%。如果含量测定与杂质检查同时测定，用面积归一化法，则线性范围应为杂质规定限度的-20%至含量限度（或上限）的+20%。

（四）准确度

准确度系指用该方法测定的结果与真实值或认可的参考值之间接近的程度。有时也称真实度。

一定的准确度为定量测定的必要条件，因此涉及到定量测定的检测项目均需要验证准确度，如含量测定、杂质定量试验等。

准确度应在规定的范围内建立，对于制剂一般以回收率试验来进行验证。试验设计需考虑在规定范围内，制备 3 个不同浓度的试样，各测定 3 次，即测定 9 次，报告已知加入量的回收率（%）或测定结果平均值与真实值之差及其可信限。

1、含量测定

原料药可用已知纯度的对照品或符合要求的原料药进行测定，或用本法所得结果与已建立准确度的另一方法测定的结果进行比较。

制剂可用含已知量被测物的各组分混合物进行测定。如不能得到制剂的全部组分，可向制剂中加入已知量的被测物进行测定，必要时，与另一个已建立准确度的方法比较结果。

2、杂质定量试验

杂质的定量试验可向原料药或制剂中加入已知量杂质进行测定。如果不能得到杂质，可用本法测定结果与另一成熟的方法进行比较，如药典方法或经过验证的方法。

如不能测得杂质的相对响应因子，可在线测定杂质的相关数据，如采用二极管阵列检测器测定紫外光谱，当杂质的光谱与主成分的光谱相似，则可采用原料药的响应因子近似计算杂质含量（自身对照法）。并应明确单个杂质和杂质总量相当于主成分的重量比（%）或面积比（%）。

（五）精密度

精密度系指在规定的测试条件下，同一均质供试品，经多次取样进行一系列检测所得结果之间的接近程度（离散程度）。

精密度一般用偏差、标准偏差或相对标准偏差表示。用标准偏差或相对标

准偏差表示时，取样测定次数应至少 6 次。

精密度可以从三个层次考察：重复性、中间精密度、重现性。

1、重复性

重复性系指在同样的操作条件下，在较短时间间隔内，由同一分析人员测定所得结果的精密度。

重复性测定可在规定范围内，至少用 9 次测定结果进行评价，如制备 3 个不同浓度的试样，各测定 3 次，或 100% 的浓度水平，用至少测定 6 次的结果进行评价。

2、中间精密度

中间精密度系指在同一实验室，由于实验室内部条件改变，如时间、分析人员、仪器设备、测定结果的精密度。

验证设计方案中的变动因素一般为日期、分析人员、设备。

3、重现性

指不同实验室之间不同分析人员测定结果的精密度。

当分析方法将被法定标准采用时，应进行重现性试验。

（六）检测限

检测限系指试样中的被分析物能够被检测到的最低量，但不一定要准确定量。

该验证指标的意义在于考察方法是否具备灵敏的检测能力。因此对杂质限度试验，需证明方法具有足够低的检测限，以保证检出需控制的杂质。

1、直观法

直观评价可以用于非仪器分析方法，也可用于仪器分析方法。

检测限的测定是通过一系列已知浓度被测物的试样进行分析，并能准确、可靠检测被测物的最小量或最低浓度来建立。

2、信噪比法

用于能显示基线噪音的分析方法，即把已知低浓度试样测出的信号与噪声信号进行比较，计算可检出的最低浓度或量。一般以信噪比为 3: 1 时相应的浓度或注入仪器的量确定检测限。

其他方法有基于工作曲线的斜率和响应的标准偏差进行计算的方法等。

无论用何种方法，均应用一定数量的试样，其浓度为近于或等于检测限，进行分析，以可靠地测定检测限。

(七) 定量限

定量限系指试样中的被分析物能够被定量测定的最低量，其测定结果应具有一定的准确度和精密度。

定量限体现了分析方法是否具备灵敏的定量检测能力。杂质定量试验，需考察方法的定量限，以保证含量很少的杂质能够被准确测出。

常用信噪比法确定定量限。一般以信噪比为 10: 1 时相应的浓度或注入仪器的量进行确定。

1、直观法

直观评价可以用于非仪器分析方法，也可用于仪器分析方法。

定量限一般通过对一系列含有已知浓度被测物的试样进行分析，在准确度和精密度都符合要求的情况下，来确定被测物能被定量的最小量。

2、信噪比法

用于能显示基线噪音的分析方法，即把已知低浓度试样测出的信号与噪声信号进行比较，计算出可检出的最低浓度或量。一般可信噪比为 10:1。

其他方法有基于工作曲线的斜率和响应的标准偏差进行计算的方法等。

无论用何种方法，均应用一定数量的试样，其浓度为近于或等于定量限，进行分析，以可靠地测定定量限。

（八）耐用性

耐用性系指测定条件发生小的变动时，测定结果不受影响的承受程度。

耐用性主要考察方法本身对于可变试验因素的抗干扰能力。开始研究分析方法时，就应考虑其耐用性。如果测试条件要求苛刻，则建议在方法中予以写明。

典型的变动因素包括：液相色谱法中流动相的组成、流速和 pH 值、不同厂牌或不同批号的同类型色谱柱、柱温等。气相色谱法中载气及流速、不同厂牌或批号的色谱柱、固定相、担体、柱温、进样口和检测器温度等。

经试验，应说明小的变动是否符合系统适用性试验要求，以确保方法有效。

（九）系统适用性试验

对一些仪器分析方法，在进行方法验证时，有必要将分析设备、电子仪器与实验操作、测试样品等一起当作完整的系统进行评估。系统适用性便是对整个系统进行评估的指标。系统适用性试验参数的设置需根据被验证方法类型而定。

色谱方法对分析设备、电子仪器的依赖程度较高，因此所有色谱方法

均应进行该指标验证，并将系统适用性作为分析方法的组成部分。具体验证参数和方法参考中国药典有关规定。

五、方法再验证

在某些情况下，如原料药合成工艺改变、制剂处方改变、分析方法发生部分改变等，均有必要对分析方法再次进行全面或部分验证，以保证分析方法可靠，这一过程称为方法再验证。

再验证原则：根据改变的程度进行相应的再验证。

当原料药合成工艺发生改变时，可能引入新的杂质，杂质检查方法和含量测定方法的专属性就需要再进行验证，以证明有关物质检查方法能够检测新引入的杂质，且新引入的杂质对主成份的含量测定应无干扰。

当制剂的处方组成改变、辅料变更时，可能会影响鉴别的专属性、溶出度和含量测定的准确度，因此需要对鉴别、含量测定方法再验证。当原料药产地来源发生变更时，可能会影响杂质检查和含量测定的专属性和准确度，因此需要对杂质检查方法和含量测定方法进行再验证。

当质量标准中某一项目分析方法发生部分改变时，如采用高效液相色谱法测定含量时，检测波长发生改变，则需要重新进行检测限、专属性、准确度、精密度、线性等内容的验证，证明修订后分析方法的合理性、可行性。

同样，已有国家标准的药品质量研究中，基于申报的原料药合成工艺、制剂处方中的辅料等一般无法保证与已上市药品的一致性，需对质量标准中部分项目进行方法的再验证。

方法再验证是对分析方法的完善过程，应根据实际改变情况进行再验

证，从而保证所采用的分析方法能够控制药品的内在质量。

六、对方法验证的评价

对于方法验证，有以下几个方面值得关注。

（一）有关方法验证评价的一般考虑

总体上，方法验证应围绕验证目的和一般原则来进行，方法验证内容的选择和试验设计方案应系统、合理，验证过程应规范严谨。

并非每个检测项目的分析方法都需进行所有内容的验证，但同时也要注意验证内容应充分，足以证明采用的分析方法的合理性。如杂质限度试验一般需要验证专属性和检测限，而对于精密度、线性、定量限等涉及定量测定的项目，则一般不需要进行验证。

（二）方法验证的整体性和系统性

方法验证内容之间相互关联，是一个整体。因此不论从研发角度还是评价角度，方法验证均注重整体性和系统性。

例如，对于鉴别项目所需要的专属性，一般一种分析方法不太可能完全鉴别被分析物，此时采用两种或两种以上分析方法可加强鉴别项目的整体专属性。

在方法验证内容之间也存在较多的关联性，可以相互补充。如原料药含量测定采用容量分析法时，由于方法本身原因，专属性略差，但假如在杂质检测时采用了专属性较强的色谱法，则一般认为整个检测方法也具有较强的专属性。

总之，由于实际情况较复杂，在方法验证过程中，不提倡教条地去进行方法验证。此外，越来越多的新方法不断被用于质量控制中，对于这些

方法如何进行验证需要具体情况具体分析，而不能照搬本指导原则。

七、参考文献

1. FDA.Guidance for Industry:analytical procedures and methods validation,chemistry,manufacturing,and controls documentation(Draft), 2000.8。
2. ICH Q2A.Test on Validation of Analytical Procedures
3. ICH Q2B.Validation of Analytical Procedures:Methodology
- 4.中国药典 2000 年版二部附录.药品质量标准分析方法验证

八、著者

《化学药物质量控制分析方法验证技术指导原则》课题研究组