

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序	页码 Page: Page 1 of 21
	STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序  Title: Analytical Method Validation Procedure	生效日期 Effective Date:
起草人/日期 Prepared by/Date:		批准人/日期 Approved by/Date:
审核人/日期 Reviewed by/Date:		

## 1. 目的 PURPOSE

建立分析方法验证的程序要求、文件和步骤，确保分析方法有效。

## 2. 范围 SCOPE

2.1 实验室涉及定性或定量的分析方法，包括含量、有关物质（限度或定量）、鉴别和性能测试等相关分析方法。

2.2 颗粒度与原子吸收在此文件中单独列出，微生物见 SOP C-2007。

2.3 不适用于毒性、临床前和临床研究的生物分析方法。

2.4 本 SOP 为验证的通用要求。产品的具体分析方法验证应有相应验证文件，可根据实际情况对验证过程进行调整。

## 3. 定义 DEFINITION

### 3.1 分析方法的分类

3.1.1 按照检测目的的不同有如下表 3-1 所述

表 3-1: 分析方法的分类

分类	描述
I 类: 含量测定	包括主成分、防腐剂等的含量测定。
II 类: 杂质测定	包括原料药的杂质测定和制剂成品的降解产物的测定，分为限度和定量分析两种。
III 类: 性能测定	包括溶出度/释放度，含量均匀度，粒径分析、旋光度、粘度等分析
IV 类: 鉴别测定	包括化学方法、光谱方法和色谱方法等

3.1.2 按照来源不同又分为法定分析方法和非法定分析方法

3.1.2.1 法定分析方法-包括各药典收载的或已经验证并在法规部门注册得到批准的分析方法。

3.1.2.2 非法定分析方法除上述分析方法外自主开发或者是经过修订的法定分析方法。

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 2 of 21

### 3.2 分析方法验证/确认

一般来说, 无论是应用于生产过程、放行、接收还是稳定性试验, 所用的方法必须是经过验证或确认且有文件支持的分析方法。

3.2.1 分析方法验证-证明分析方法符合其应用目的的过程。对于自主开发分析方法, 须经过全面的验证, 详见表 3-2。对于经过修订的法定方法, 视修改的条件, 必须进行部分或全面的方法验证。

表 3-2: 分析方法的验证要求

验证参数		含量测试	杂质测定		性能测试	鉴别试验
			定量	限度		
系统适用性		+	+	+	#	#
专属性 ▲	选择性	+	+	+	+	+
	稳定性指示方法 (强制降解)*	+	+	-	-	-
LOD		-	#	+	-	-
LOQ		-	+	-	-	-
线性		+	+	-	#	-
范围		+	+	-	#	-
准确度		+	+	-	#	-
精密度	重复性	+	+	-	#	-
	中间精密度	+	+	-	#	-
	重现性	#	#	-	#	-
耐用性		+	+	#	#	#
溶液稳定性※	对照品	+	+	+	#	#
	样品	+	+	+	#	#
滤膜影响试验 (适用于制剂)		#	#	-	#	-

注: (1) - 正常情况下不需包含在验证方案中;

(2) + 正常情况下须包含在验证方案中;

(3) # 根据实际需求而定;

(4) ※ 溶液的稳定性至少应包括实际应用条件下的稳定性;

(5) ▲ 不能完全代表物质专属性的分析方法, 应有其它分析方法补充;

(6) \* 当分析方法用于稳定性样品的检测时, 专属性必须做稳定性指示特性;

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 3 of 21

- (7) 只有当方法转移到不同地点的另一个实验室或收录在药典中时才需要做重现性，如果已经做了重现性，中间精密度可不做；
- (8) 滤膜影响试验：根据实际需求而定，对于定量分析中使用到滤膜的一般要求做。

3.2.2 分析方法确认——证明分析方法可适用于实验室进行检验工作的过程。对于法定分析方法，须进行必要的确认，见表 3-3 和表 3-4。

表 3-3: 原辅料法定分析方法确认时验证参数的选择

分析技术	含量测定	杂质测定		性能测定	鉴别测定
		定量	限度		
HPLC	系统适用性 溶液稳定性 精密度 专属性☆	系统适用性 溶液稳定性 精密度 专属性☆ LOQ (S/N≈10) LOD#	系统适用性 专属性☆ LOQ# LOD	N/A	系统适用性 专属性☆
GC	系统适用性 溶液稳定性 精密度 专属性☆ 线性和范围	系统适用性 溶液稳定性 精密度 专属性☆ LOQ 和 LOD#	系统适用性 专属性☆ LOQ# LOD	N/A	系统适用性 专属性☆
分光光度法-IR	系统适用性# 精密度	系统适用性# 精密度 LOQ 和 LOD#	专属性☆ LOD	N/A	N/A*
分光光度法-其它	系统适用性# 精密度	系统适用性# 精密度 LOQ 和 LOD#	专属性☆ LOD	N/A	专属性☆
容量分析	精密度	精密度	N/A	N/A	N/A
TLC	N/A	专属性☆ 精密度 LOQ 和 LOD#	专属性☆ LOD	N/A	专属性☆
电泳	N/A	专属性☆ 精密度 LOQ 和 LOD	专属性☆ LOD	N/A	专属性☆

N/A: 表示不适用；# 根据实际需求而定；☆专属性只做选择性即可。

\*: 对于原辅料，若在该物料检测过程中，与标准品相比，样品配备过程不涉及加入其它

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 4 of 21

物料, 即最终检测的是纯的物料, 可不做该产品的专属性实验。

表 3-4: 制剂法定分析方法确认时验证参数的选择

分析技术	含量测定	杂质测定		性能测定	鉴别测定
		定量	限度		
HPLC-GC	系统适用性 溶液稳定性 滤膜影响试验 精密度 专属性☆ 线性和范围	系统适用性 溶液稳定性 滤膜影响试验 精密度 专属性☆ LOQ	系统适用性 专属性☆ LOD	精密度	系统适用性 专属性☆
分光光度法	系统适用性# 精密度	系统适用性# 精密度 LOQ	专属性☆ LOD	精密度	专属性*
容量分析	精密度 线性和范围	精密度	N/A	N/A	N/A
TLC	N/A	专属性☆ 精密度 LOQ 和 LOD#	专属性☆ LOD	N/A	专属性
电泳	N/A	专属性☆ 精密度 LOQ 和 LOD	专属性☆ LOD	N/A	专属性☆

N/A: 表示不适用; # 根据实际需求而定; ☆专属性只做选择性即可。

\*: 对于制剂产品, 考虑到辅料干扰, 需要进行专属性实验。

3.3 再验证-分析方法、原料药生产工艺或制剂处方发生变化时, 应对分析方法进行评估并确定是否需要重新验证, 以保证该分析方法特性。重新验证的范围取决于分析方法、工艺、处方变化的性质。如工艺等无任何改变, 除另有要求外, 再验证评估周期为 5 年, 制剂处方及工艺未发生变化时, 分析方法不需要再验证。分析方法重新验证举例如表 3-5 所示。分析方法重新验证的内容应根据具体情况准备合适的再验证方案。

表 3-5: 变化和重新验证要求实例

变化	全部再验证	部分再验证
原料药合 无新的已知杂质	——	专属性

禁止复印 DO NOT COPY

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 5 of 21

成路线	有新的已知杂质	——	对新的已知杂质全部验证
工艺/处方明显变化		是	——
工艺/处方小的变化		——	根据情况
质量标准变化	根据变化情况确定		
HPLC 法的流动相种类		是	——
样品准备方法		根据变化情况确定	中间精密度 样品溶液稳定性
仪器或软件平台		——	LOQ (仪器变化)

### 3.4 术语

3.4.1 分析方法-指进行分析的方式，应详细描述进行每个分析实验所必需的步骤。它包括但不局限于：样品、对照品、试剂、溶液配制、仪器使用、计算公式运用等。

3.4.2 系统适用性-指在分析样品前的一系列进样，为了确保色谱系统能准确检测。

3.4.3 溶液稳定性-指溶液可储存的环境和时间。储备/工作对照品和样品溶液的稳定性决定其储存时间。在储存期内，被分析物在溶液中保持稳定，对照品溶液使用有效，样品溶液能被分析或再次分析。如果没有对照品和样品溶液稳定性的数据，其它验证项目的结果不应被认可。

3.4.4 滤膜影响实验-指试验中使用到的滤膜对于被分析物准确可靠测定的影响。

3.4.5 专属性-指在其他组分（如杂质、降解产物、辅料等）可能存在的情况下，分析方法能准确地测出被测组分的特性。原料药物中常含有杂质，如合成的原料、中间体、副产物以及降解产物等，制剂中则含有辅料、杂质，如活性药物中存在的杂质、降解产物、活性药物与辅料相互作用的产物、辅料或生产过程中的残留溶剂、容器密封系统或生产过程中的滤出物或提取物等。分析方法的专属性高，就可以排除这些干扰组分的影响，准确地测定被测组分。

3.4.6 线性与范围-线性是指在指定范围内由该分析方法得到的结果与被分析物样品的浓度（量）成正比的关系。线性通常用来表示回归曲线的斜率与被分析物不同浓度的样品测试结果的偏差。验证范围是由线性和准确度的范围确定的。

3.4.7 准确度-指用该方法测得的结果与真实值或认可的参考值之间的接近程度。

3.4.8 精密度-指规定条件下对均质样品多次取样进行一系列检测结果的接近程度（离散程度）。精密度可从以下三个层次考虑：

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 6 of 21

3.4.8.1 重复性-指对同一均匀样品多次取样,在一定条件下进行多次测定所得结果之间的接近程度。

3.4.8.2 中间精密度-指考察实验室内不同人员用不同仪器,在不同时间分析时,对方法精密度及准确度的影响。

3.4.8.3 重现性-指考察不同实验室分析时,对方法精密度及准确度的影响。

3.4.9 检测限(LOD)-指样品中被分析物能被检测到的最低量,但是在规定实验条件下不需定量到一个准确值,通过  $S/N \approx 3$  来确定。它经常被应用于制剂中有关物质微量水平的分析。这些限度指标用于制剂中与放行和稳定性有关的杂质检测方法。

3.4.10 定量限(LOQ)-它被用于杂质或降解产物的微量检测。分为方法的 LOQ 和仪器的 LOQ。方法的 LOQ 指能够定量检测到被分析物的最低浓度,并在该浓度点上具有合适的精密度、准确度和灵敏度。方法的线性范围应包含该浓度点。仪器的 LOQ 则用  $S/N \approx 10$  确定,用于评估具体使用的分析仪器的灵敏度。

3.4.11 耐用性-指测定条件发生小的变动时,测定结果不受影响的程度,同时也是分析方法在正常使用时的可靠性指标。

#### 4 职责 RESPONSIBILITIES

4.1 分析方法部门负责起草验证方案和报告。

4.2 实验室负责人及相关部门负责人负责审核验证方案和报告。

4.3 QA 负责人负责审核和批准验证方案和报告。

#### 5 程序 PROCEDURE

##### 5.1 产品研发不同阶段的方法验证

对于一个研发的产品来说,每个阶段都要求有大量的信息来保证准确的鉴别、质量、纯度和剂量。方法分析和方法验证的信息量随着研究阶段的不同而变化,如表 5-1 所示。

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 7 of 21

表 5-1: 产品开发不同阶段方法验证的要求

开发阶段	方法验证要求
工艺/处方筛选	初始开发
工艺/处方确定	继续开发
试生产和放大批次	继续开发, 预验证, 和正式验证
DMF/ANDA 申报批、BE 批工艺验证	方法最后确定和完全验证/确认
稳定性考察	稳定性指示特性验证项目完成
批准后	如果需要, 重新验证/确认

## 5.2 成立验证小组

分析方法验证实施前, 首先成立验证实施小组, 小组成员至少包括实施部门的相关成员和 QA, 并有实施部门负责人指定一名有经验人员作为验证小组组长, 负责组织协调验证方案和验证报告的撰写, 以及协调解决验证中可能出现的各种偏差。

## 5.3 方法验证的名称和编号

方法验证文件的名称要正确描述所验证的产品的全称和内容, 验证文件分方案和报告, 方案和报告共用一个验证编号, 在编号的后面用 (P) 表示方案和 (R) 表示报告。验证方案经过批准后才能实施, 验证报告批准后才能生效。

## 5.4 实验开始前

5.4.1 成功的方法验证始于方法的有效开发。分析部门和各相关部门须按照方法的应用目的评估方法的适用性。

5.4.2 在开始验证研究前, 应根据方法的目的和验证要求写出一个准备充分的验证方案。本 SOP 中没有明确描述试验所要求的验证, 而由分析部门推荐。设计验证实验时尽量在一个实验中包含多个验证参数。方案中应详细地描述操作步骤, 并应包括预定的接受标准。方法草案完成时, 初期的方法验证, 尤其是正被讨论的或不是很了解的参数, 如专属性应尽快确定。

## 5.5 验证方案的变更

若验证已经开始执行, 方案若需要变更, 须经 QA 批准并附在方案后。任何没有经过

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 8 of 21

批准的方案变更要被当作偏差处理，并在验证报告中说明。会对验证产生影响的任何变更情况均应指明，包括偏差和所有其它能影响验证工作质量和真实性的各种环境因素。

## 5.6 验证数据的管理

为了跟踪所有的验证活动，最好分配一个相应的文件夹来说明产生数据的类型和位置，所有的验证数据，包括纸质版和电子版数据应该被正确并完整的记录、文件化、引用。

## 5.7 实验完成

5.7.1 验证方案执行完成后，在验证总结报告中分析数据的结果、结论和偏差。

5.7.2 验证报告一旦批准，根据报告中的建议，方法最终被确定下来，然后发布和使用。

5.7.3 对于已完成的验证，需要实行再验证或补充验证，或者需要对原验证文件进行修改，具体操作见验证管理制度 SOP G-004.

## 6 各验证项目的具体要求 DETERMINATION AND ACCEPTANCES

以下各验证项目仅以液相色谱方法验证为例给出验证的实验方法和可接受标准，其它分析方法如气相色谱方法、紫外方法，可根据方法本身的特点适当设置验证要求。除另有规定外，验证方案也应根据本规定起草。

### 6.1 系统适用性

API 系统适用性具体内容及要求详见 SOP QC-013，制剂系统适用性具体内容及要求详见 SOP C-047。

### 6.2 溶液稳定性

溶液稳定性试验应根据试验方法而设计，因为很多试验是利用自动取样器整夜运行，并且在试验完成之前样品在实验室环境下已放置多个小时。如方案无特殊规定，稳定性所需的时间最低要求为大于 24 小时。

#### 6.2.1 实验方法

对照品或样品溶液的稳定性经常用新配制的对照品溶液来检验，根据试验方法在特定试验条件下在规定时间点定量测定对照品或样品溶液中的被分析物。若有其他要求，可根据方案进行测定，如储备溶液的稳定性考察。

编号 No.: SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称: 分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 9 of 21

## 6.2.2 接受标准

6.2.2.1 含量和溶出度分析: 在预定的稳定性期间内, 被测试的对照品或样品溶液的含量与初始溶液相比应在 98.0%~102.0% 范围内。

6.2.2.2 有关物质分析: 在预定的稳定性期间内, 被测试的对照品中已知物质的含量与初始溶液相比应 95.0%~105.0% 范围内。

6.2.2.3 在预定的稳定性期间内, 被测试的样品溶液应在下述几方面与 0 天相似:

- a. RRT 可辨认各已知杂质;
- b. 含量在最小检测量 (报告限) 以上的各杂质峰数一致, 且增长量不得大于质量标准的 20% ;
- c. 杂质之和的绝对偏差不得超过质量标准的 50% 。

## 6.3 滤膜影响试验

制剂中有涉及辅料的需要进行过滤膜研究, 应对工作标准品溶液、样品溶液和稀释液进行过滤膜研究。

### 6.3.1 实验方法

过滤膜研究应选取方法中指定的过滤膜进行, 不去除初滤液并连续收集一定体积的滤液, 与控制样品 (未过滤的标准品溶液和离心的样品溶液) 相比较。

### 6.3.2 接受标准

6.3.2.1 含量分析: 与控制溶液样品比较, 过滤样品溶液的含量值应在 98.0%-102.0% 之间, 并由此决定初滤液应该弃去的体积。

6.3.2.2 溶出度分析: 与控制溶液样品比较, 过滤样品溶液的含量值应在 98%-102% 之间, 并由此决定初滤液应该弃去的体积。

6.3.2.3 有关物质分析: 与控制溶液样品比较, 过滤样品溶液的含量值应在 95%-105% 之间, 并由此决定初滤液应该弃去的体积。

## 6.4 专属性

在鉴别试验、杂质检查和含量测定的验证期间, 应该进行专属性的研究。对于一些特定的被测组分不可能总是有一种专属的分析方法。如果使用一个非专属的分析方法, 应该用其它辅助的分析方法保证完全的专属性。例如, 当原料药放行采用滴定法来测定含量时, 专属性研究可以结合使用杂质的测定方法。

SOP QC-008.01	标准操作程序 STANDARD OPERATION PROCEDURE	
	名称：分析方法验证管理程序 Title: Analytical Method Validation Procedure	页码 Page: Page 10 of 21

#### 6.4.1 鉴别试验的专属性

鉴别试验应该能区分有可能存在的结构相似或结构密切相关的化合物。含有被分析物的样品鉴别试验成阳性，不含有被分析物的样品鉴别试验成阴性，应充分排除潜在干扰物的影响，这样才能确保一种方法的专属性。

#### 6.4.2 含量测定和杂质测定的专属性

##### 6.4.2.1 实验方法

对色谱法来说，要充分考虑两个最相近组分的分离度，并用有代表性的色谱图来证明专属性。色谱图应该是清晰的，有组分标示的，且应该显示出时间和时间范围。其他的分析方法也同样要有代表性的证明。

峰的保留时间和纯度试验可以证明被分析的色谱峰是否是单一组分。可以进行峰纯度试验的分析技术包括：**DAD**(光电二极管阵列)检测器、**PDA**（图像光电二极管阵列）检测器和**MS**（质谱）检测器。

6.4.2.1.1 如果杂质、降解产物、辅料是已知的并可得到的，则可通过在原料药、制剂中加入一定量的杂质、降解产物和/或辅料来证明方法的专属性（选择性及干扰）。

6.4.2.1.2 当杂质或降解产物没被鉴别或不能得到时，专属性可以通过将含有一定量的杂质或降解产物的样品测定结果，与另一种成熟的方法测定结果进行比较，如药典方法或经论证的其他方法（与该方法不相关的方法）进行比较来证实。

##### 6.4.2.1.3 强制降解实验

1) 对色谱法来说，样品应进行强降解试验并证明被分析物 **HPLC** 峰不被干扰。强制降解指将样品置于相关的苛刻条件下进行降解：光、高温、高湿、酸/碱水解和氧化。专属性一般不做高湿试验。

一般的强制降解条件如下表（每类降解条件均需要一个控制样品进行核对），如有必要，可在方案中设置具体条件：

类型	条件
高温	60 °C 下放置 7 天
高湿	25°C, 90%RH, 放置 7 天
强白光*	总照度不低于 1.2 × 10 <sup>6</sup> Lux·hr
紫外光*	能量不低于 200w·hr/m <sup>2</sup>
酸#	1N HCl 中 60°C 放置 2h
碱#	1N NaOH 中 60°C 放置 2h

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/688060143125007010>