

# 工艺验证与清洁验证知识

# 主要内容

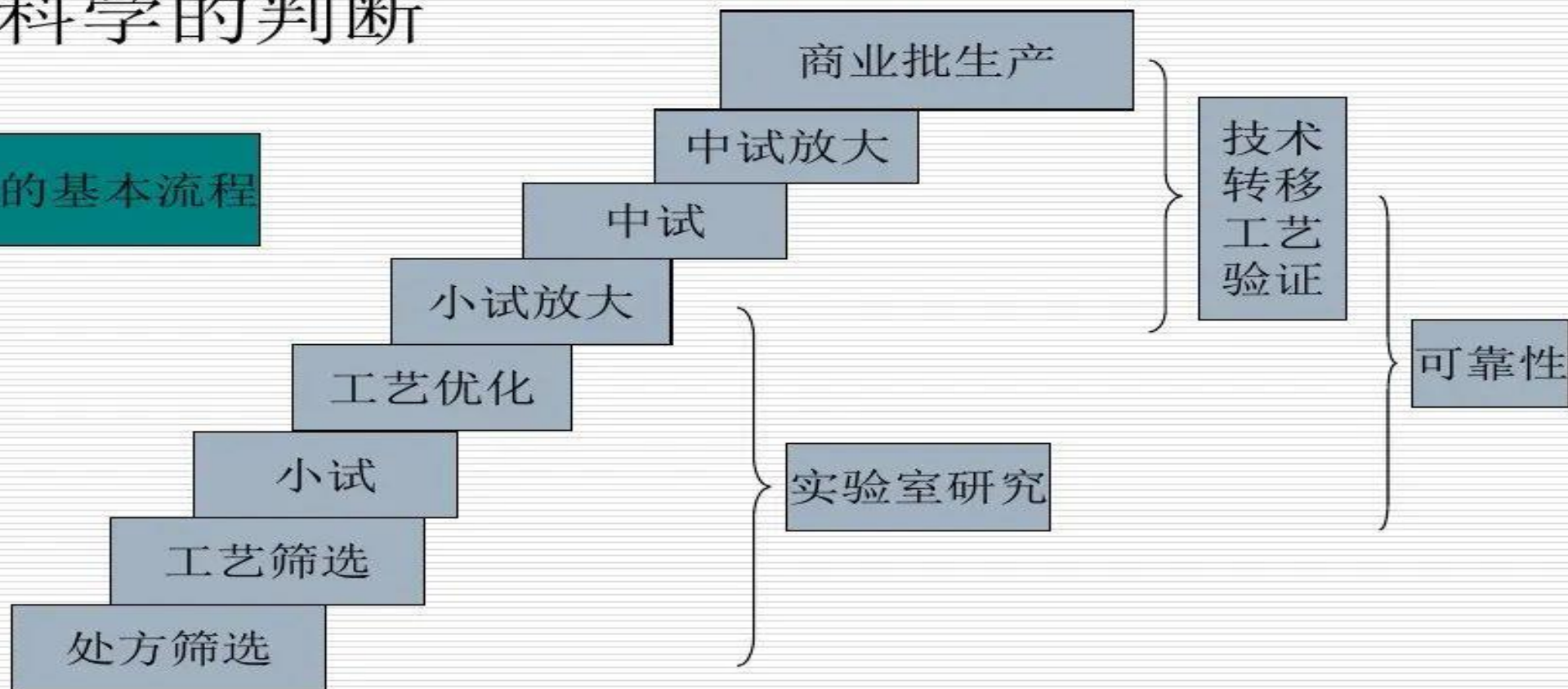
---

- 验证与产品可靠性
  - 工艺设计与工艺验证
  - 技术转移与工艺验证
  - 变更与验证
-

# 验证与产品可靠性

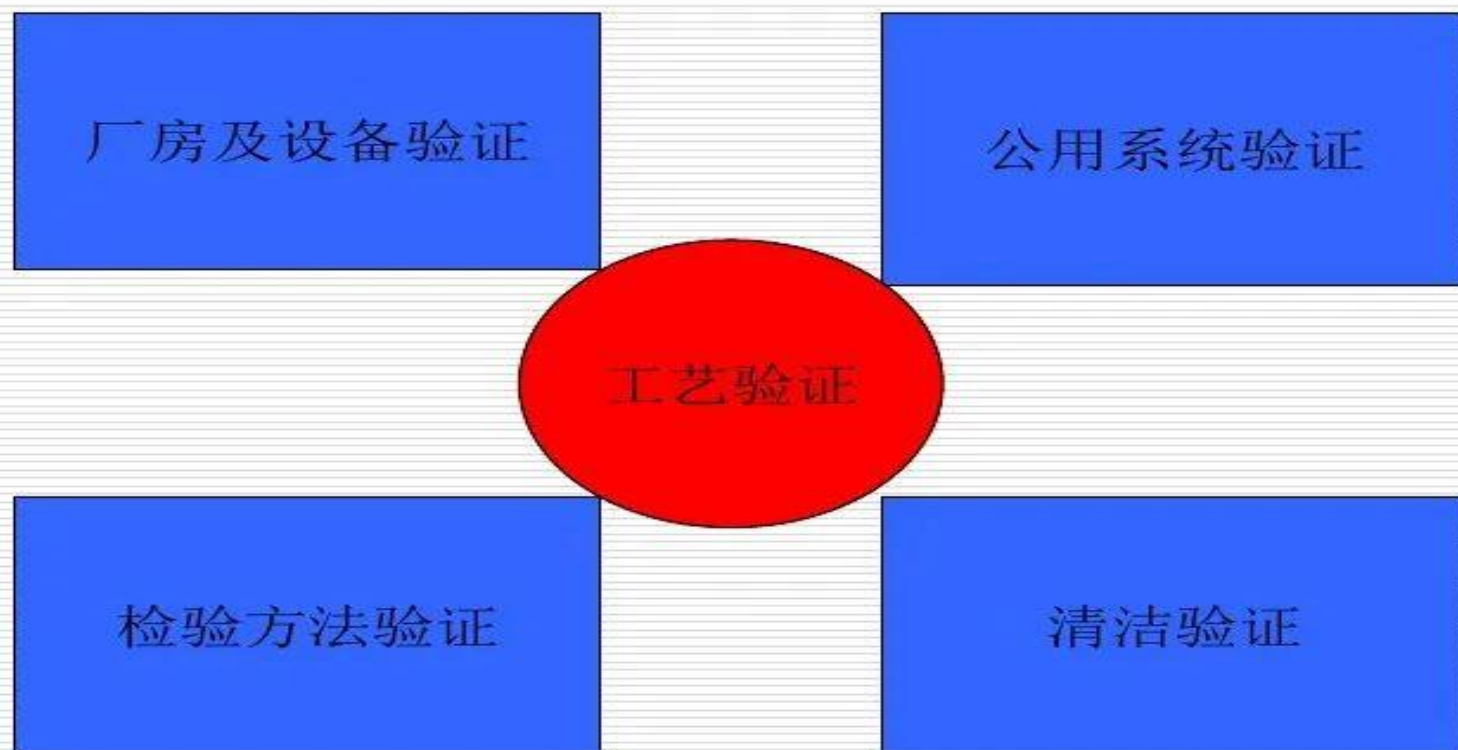
## 基于科学的判断

药品工艺研究的基本流程



# 工艺验证是风险控制的关键

---



## 生产工艺不稳定的风险时间评估

不期望事件	原因/风险失败	严重性	检测度	发生率	风险级别	风险接受	改进措施
产品不稳定	工艺未经验证	高	低	高	高	不可接受	立即实施工艺验证
产品不稳定	原生产工艺存在重大缺陷	高	中	高	高	不可接受	变更生产工艺实施验证
产品不稳定	生产条件无法持续稳定	高	中	高	高	不可接受	对生产条件进行定期验证

## 药品生产周期不同阶段目的与质量管理要素

药物研发

药物开发活动的目标是设计产品及其生产工艺以持续提供预期的性能和满足患者，保健专家，药政机构和内部客户的要求。

技术转移

技术转移活动的目标是将产品和工艺知识在生产厂区内或之间从开发转移到生产以达到产品实现。这种知识是生产工艺，控制战略，工艺验证方法和持续改进的基础。

生产

生产活动的目标包括达到产品实现，建立和维持控制状态及促进持续改进。制药质量体系应确保能经常达到理想的产品质量，能获得适宜的工艺性能，控制系列是合适的，确定改定机会，且知识能持续拓展。

产品终止

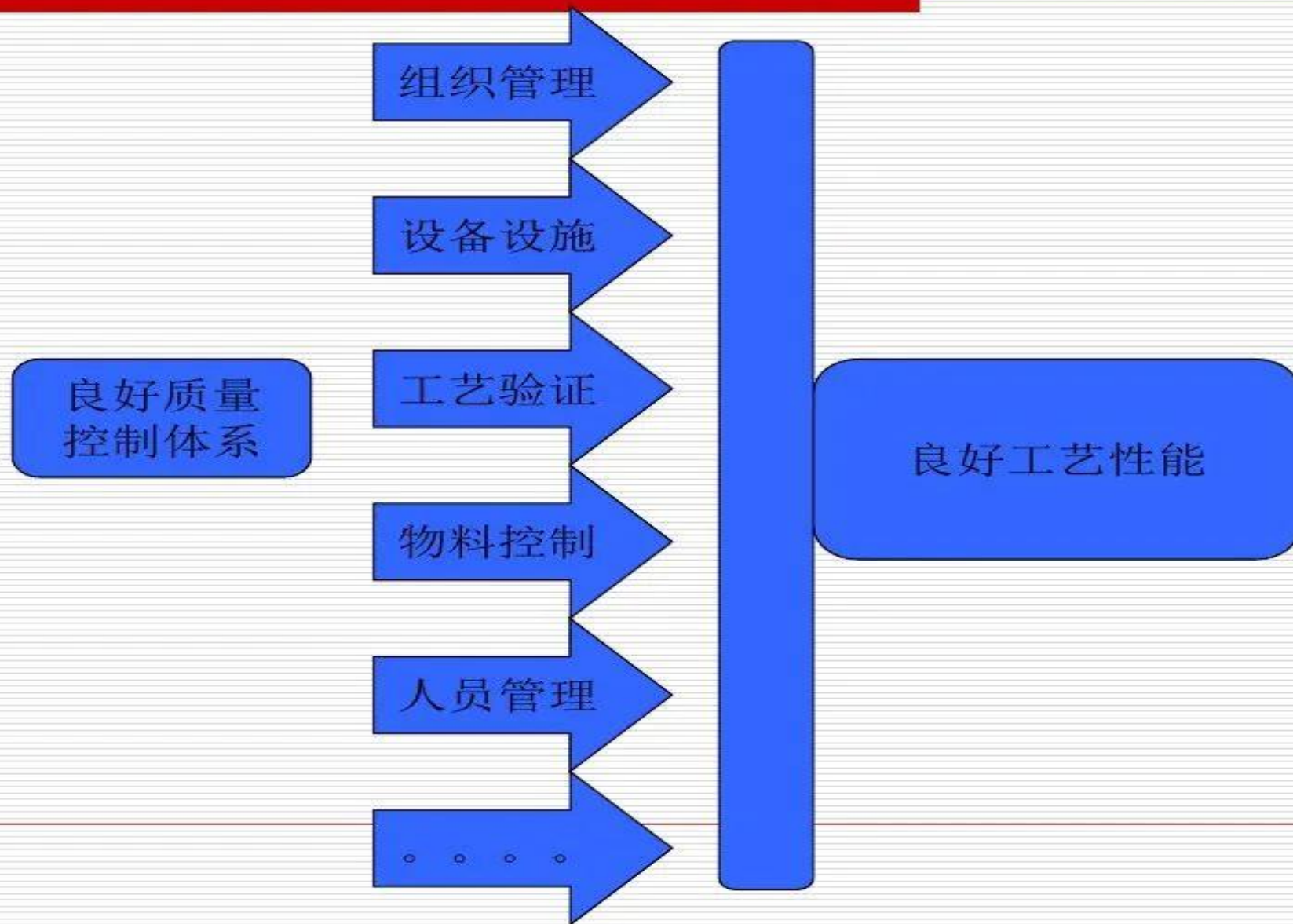
产品终止活动的目标是有效地管理产品生产周期的最后阶段

## 工艺性能和产品质量监控在整个产品生命周期内的应用

开发	技术转移	生产	生产终止
整个开发过程所做的质量风险管理 and 监控能被用于建立生产的控制策略	工艺放大活动的监控能为工艺性能和为成功整合到生产中去提供初步的提示。转移和工艺放大活动的监控能被用于进一步开发控制策略	应运用良好的工艺性能和产品质量监控体系来确保性能受控并确定改进领域	一旦生产终止，如稳定性研究等监控应继续以完成该研究。应根据区域法规要求继续执行已销售产品的相关措施

# 验证-工艺性能-质量控制体系

---



# 验证-工艺性能-质量控制体系

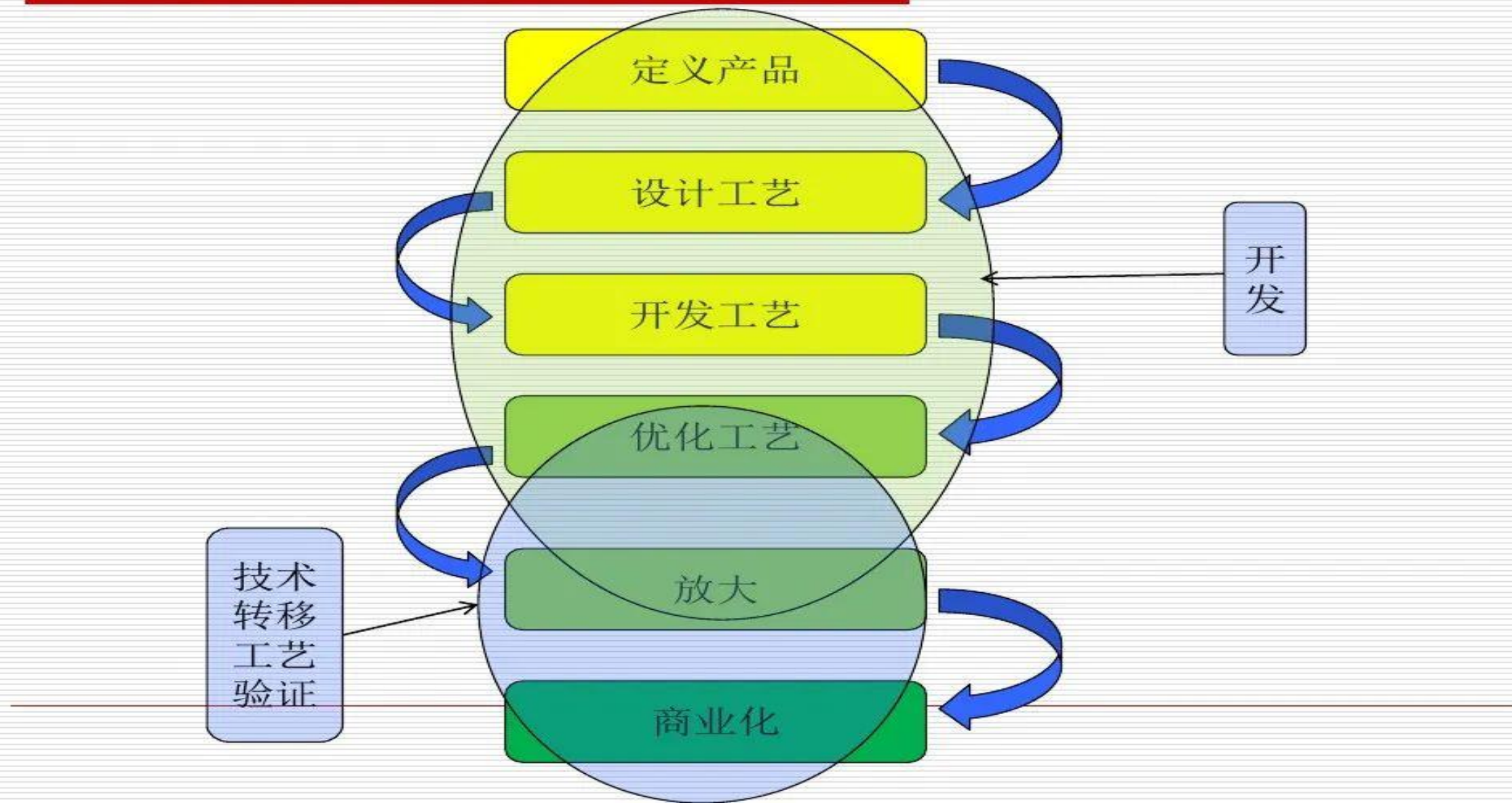
验证状态的确认	验证状态的持续保持	工艺性能的优化与革新
技术转移	已上市产品生产	偏差、变更与控制 风险控制
PAT	质量回顾、审核	技术进步
新产品上市生产	风险评估	法规要求
	偏差、变更与控制	质量改进

---

## □ 工艺设计与工艺验证

---

# 产品开发-工艺开发



# 概述

## -----工艺验证的阶段

### 第一阶段

工艺设计：在该阶段，基于从开发和放大试验活动中得到的知识确定工业化生产工艺

### 第二阶段

工艺确认：在这一阶段，对已经设计的工艺进行确认，证明其能够进行重复性的商业化生产

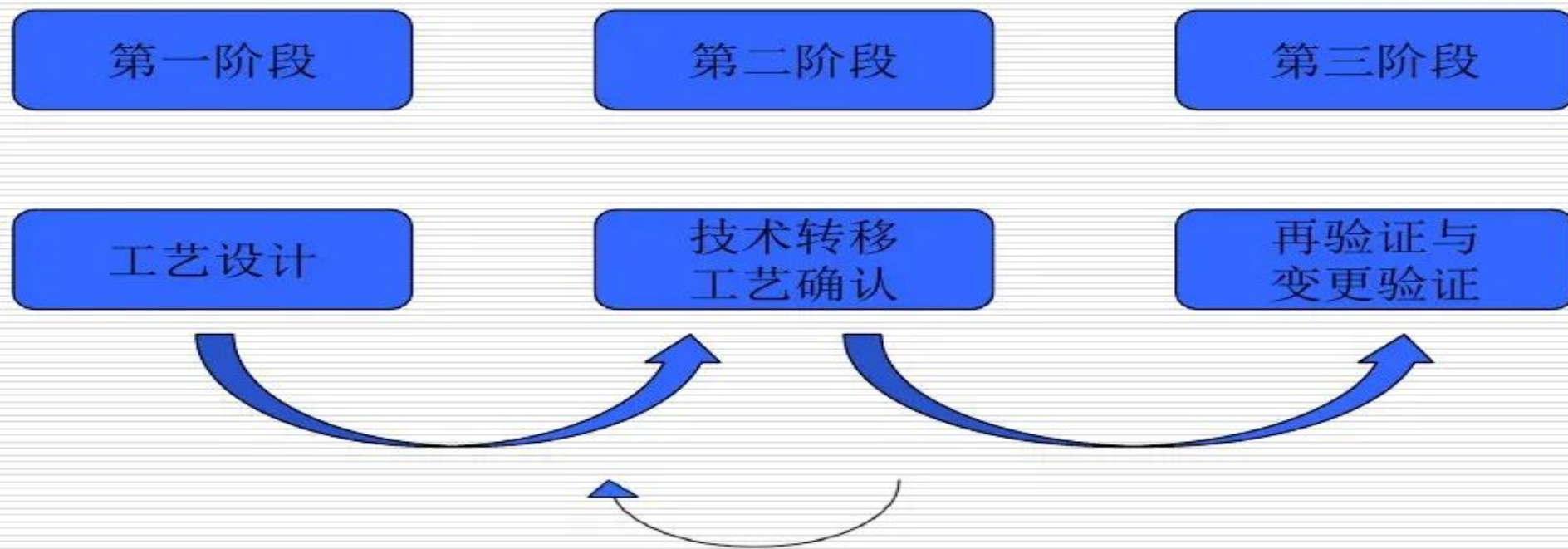
### 第三阶段

持续工艺核实：工艺的受控状态在日常工作中得到持续的保证

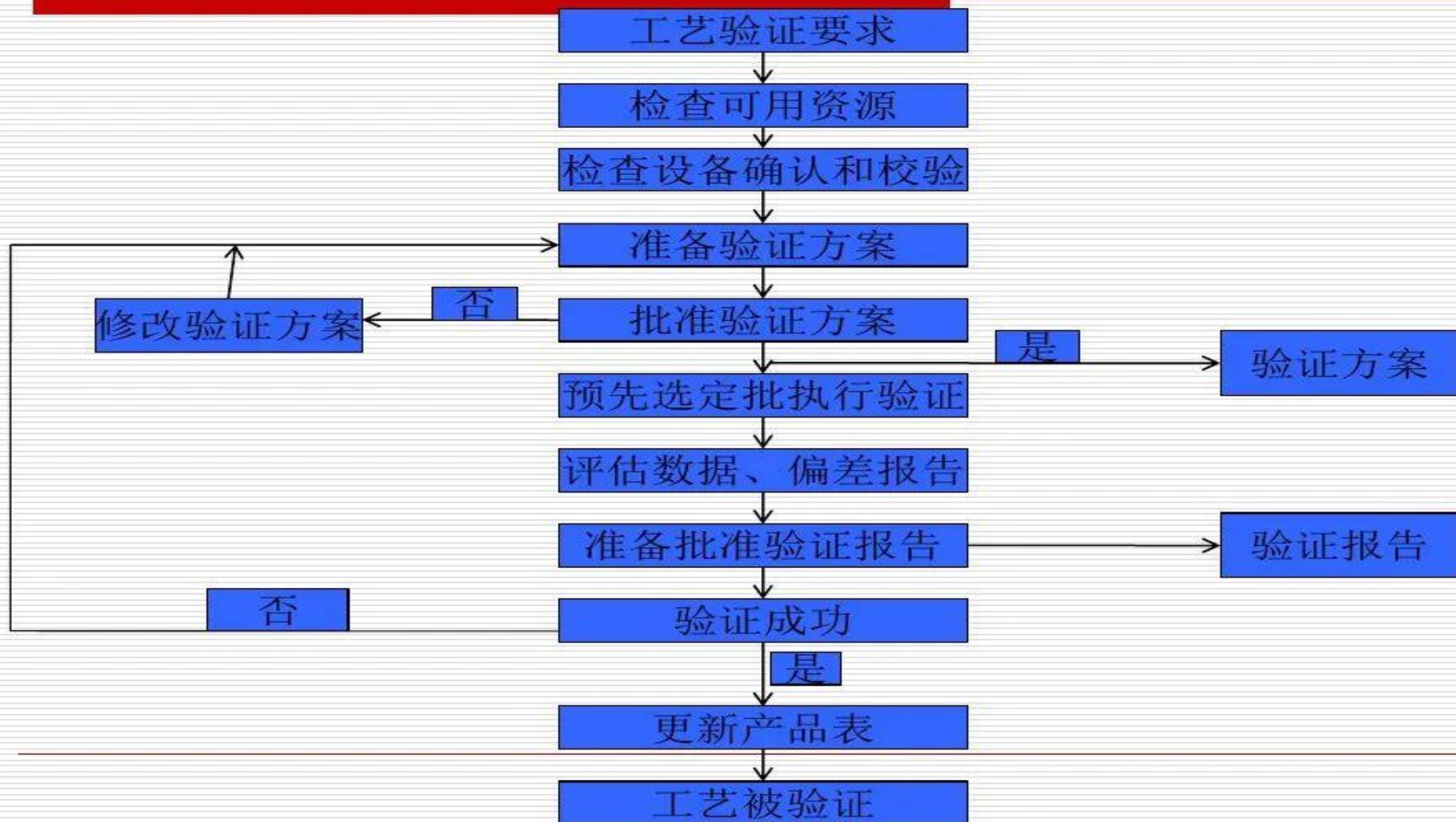
# 概述

## ---工艺验证活动不同阶段的关联性

---



# 验证的一般步骤



# 验证示例

---

## 小容量注射液验证报告

---

# 工艺确认与再验证

---

- 确认工艺设计能否进行重复性商业化生产
-

# 工艺确认阶段的要素

---

- ❑ 1. 设施设计、设备与公用系统的确认
  - ❑ 公用系统与设备的确认可以作为单一的方案和整体方案的一部分。
  - ❑ 2. 性能确认
  - ❑ PQ 的方法应当基于成熟的科学知识以及生产企业对产品工艺的总理解水平。
  - ❑ 应使用从相关研究中累计的数据来建立PQ的生产条件。
-

## DQ.IQ.OQ.PQ的联系与生产工艺

---

□ 验证 = DQ + IQ + OQ + PQ

---

## DQ.IQ.OQ.PQ的联系与生产工艺

---

- DQ与生产工艺的联系
  - 需要做什么？DQ是用户根据工艺提出的需求。
  - IQ需要考虑：
    - 设备的设计特性如材质、易清洁等
    - 安装条件如功能、介质等
    - 校准、预防性维修、清洁计划、安全特性
    - 供应商文件、照片、图纸和手册、软件档案
    - 环境条件如温度、湿度。
    - 备件清单
-

## DQ.IQ.OQ.PQ的联系与生产工艺

---

- ❑ OQ需要考虑：
  - ❑ 工艺过程的控制限度如时间、温度、压力、运行速度)
  - ❑ 软件参数：原料的规格。
  - ❑ 工艺过程运行程序：物料处理要求。
  - ❑ 工艺过程变更控制、培训、短期的工艺过程稳定性和工艺过程的实际能力。范围研究控制图。
  - ❑ 风险分析和可能失败的情形，采取的行动级别和最差状况。
-

## DQ.IQ.OQ.PQ的联系与生产工艺

---

### PQ包括以下内容：

实际的产品和在OQ中确立的运行参数和程序

确认在OQ中确立的工艺过程与实际能力

产品的可接受性

工艺过程的可重现性与可靠性

---

---

# 欧盟和中国 对工艺验证要求的差异

---

---

## 1、从验证的分类来看：

- ✦ 欧盟对工艺验证执行回顾性验证（收集批号至少**20**批）或是同步验证（收集批号至少**3**批）没有特别的要求。
  - ✦ 但部分的欧盟检查官认为，**API**最先是在实验室合成成功以后，转入生产的，因此应有前验证，并在试验开发阶段确立关键工艺参数，但当解释到我们多为老产品，检查官对前验证没有更多要求。但要求在实验室条件下，评估关键工艺参数。
-

---

## 2、从验证的内容来看：

在工艺验证中，欧盟检查官会关注如下内容：

- ◆ 关键工艺参数有哪些
  - ◆ 关键质量参数有哪些
  - ◆ 成品的杂质档案如何（有关物质）
  - ◆ 验证批号及批数选择的原则。
-

- 
- ✦成品中残留溶剂的量是否达到推荐的标准
  - ✦验证时设备和仪器仪表的校验状态是否得到确认
  - ✦验证批号是否有偏差出现，出现的偏差是否进行调查并建立预防措施
  - ✦纯粹的产品工艺验证要覆盖设备、工艺、校验、偏差、成品检验等所有内容
-

---

### 3、 欧盟非常关注对变更的验证：

- ✦ 欧盟非常关注对变更的验证，特别是对起始物料和关键工艺参数的变更。
  - ✦ 这一类变更，一定要反映出变更前后杂质档案的变化。
  - ✦ 变更起始物料和关键工艺参数，一条重要的标准是：物料的杂质档案(原料的杂质档案,成品的杂质档案)没有发生变化，没有新杂质产生。
  - ✦ 但中国**GMP**对货源变更验证往往不很重视。
-

---

#### 4、欧盟非常关注对回收工艺的验证

✦对回收物料和回收溶媒进行验证。

欧盟对回收物料的验证标准是：

✦通过验证建立回收物料和回收溶媒的回收工艺，制定处理程序。

✦对回收物料要建立适当的质量标准，应对相关杂质进行检测。

✦回收物料不能无限期的循环，以防止杂质的积累，应限定循环次数或革除的条件。

---

---

## 5、欧盟非常关注对对再验证周期的要求

- ✦ 在产生变更时，随时进行变更验证；
  - ✦ 在没有变更的情况，间隔一定的周期（一般是**4**年）要定期进行工艺再验证。
-

---

## □ 6、工艺验证中注意事项

- ◆ 确认所有设备、仪器仪表已得到校验合格；
  - ◆ 确认对验证中所有偏差进行记录，并建立有效的预防措施；
  - ◆ 确认已建立合适的可接受标准；
  - ◆ 如可能，应进行挑战性试验；
  - ◆ 应选取足够的批数，并说明选取原则。
-

---

## □ 清洁验证

---

# 清洁验证主要的5个内容

---

- 1.法规对清洁验证的要求及背景
  - 2.清洁方法的开发设计
  - 3.清洁分析方法的验证
  - 4.清洁验证示例及分析
  - 5.清洁验证审计中经常出现的问题
-

# 法规对清洁验证的要求

---

- 新版GMP的要求
- 第一百五十五条
- 清洁方法应经过验证，证实其清洁的效果，以有效防止污染和交叉污染，清洁验证应综合考虑设备的使用情况、所使用的清洁剂和消毒剂、取样方法和位置以及相应的取样回收率、残留物的性质和限度，残留物检验方法的灵敏度因素。

## 欧盟GMP的要求

- ❑ 36. 为确认清洁规程的效力，应进行清洁验证，应根据所涉及的物料，合理的确认产品的残留、清洁剂和微生物污染的限度标准，这个限度标准应该是可以达到的，能够证实的。
  - ❑ 37. 应使用经验证的、检出灵敏度高的检验方法来检测污染物，每种分析方法或仪器的检测灵敏度应足以检测出设定合格限度水平的残留或污染物。
  - ❑ 38. 通常只有接触产品设备表面的清洁规程需要进行验证，应验证**设备使用及清洁的间隔时间**，以及清洁设备可保留的时间，并通过验证确定清洁的间隔时间和清洁方法。
-

## 欧盟GMP的要求

---

- ❑ 39.对于相似产品和相似工艺而言，可从相似产品及工艺选择一个具有代表性的产品和工艺进行清洁验证，
  - ❑ 40.为证明清洁方法的有效性，通常采用连续3个批次，并且检验合格。
  - ❑ 41.清洁验证不应采用不断测试，直至清洁的方法。
  - ❑ 42.如果实际产品存在毒性物质或有害物质，在清洁验证中，可以例外的采用物理化学特性相似的无毒无害的物质来模拟。
-

# FDA的要求

- ❑ 1.检测书面的**SOP**。其中必须包括各部件的清洗过程
  - ❑ 2.必须建立书面的清洗方法验证通则
  - ❑ 3.清洗方法验证通则应规定执行验证负责人，批准验证工作的负责人、验证标准、再验证时间。
  - ❑ 4.对各生产系统或各设备部件进行清洁验证之前，应制定专一特定的验证计划，其中应规定取样规程、分析方法。
  - ❑ 5.按上述验证计划进行验证工作并记录验证结果。
  - ❑ 6.做出最终的验证报告，报告应由有关管理人员批准，并说明该清洁方法是否有效。
-

## 清洁方法的开发设计

---

□ 清洁方法的分类和特点：

□ 手工清洁

□ 在线清洁

□ 在线清洁的特点：

1. 设备、容器、管道能够自动清洗。

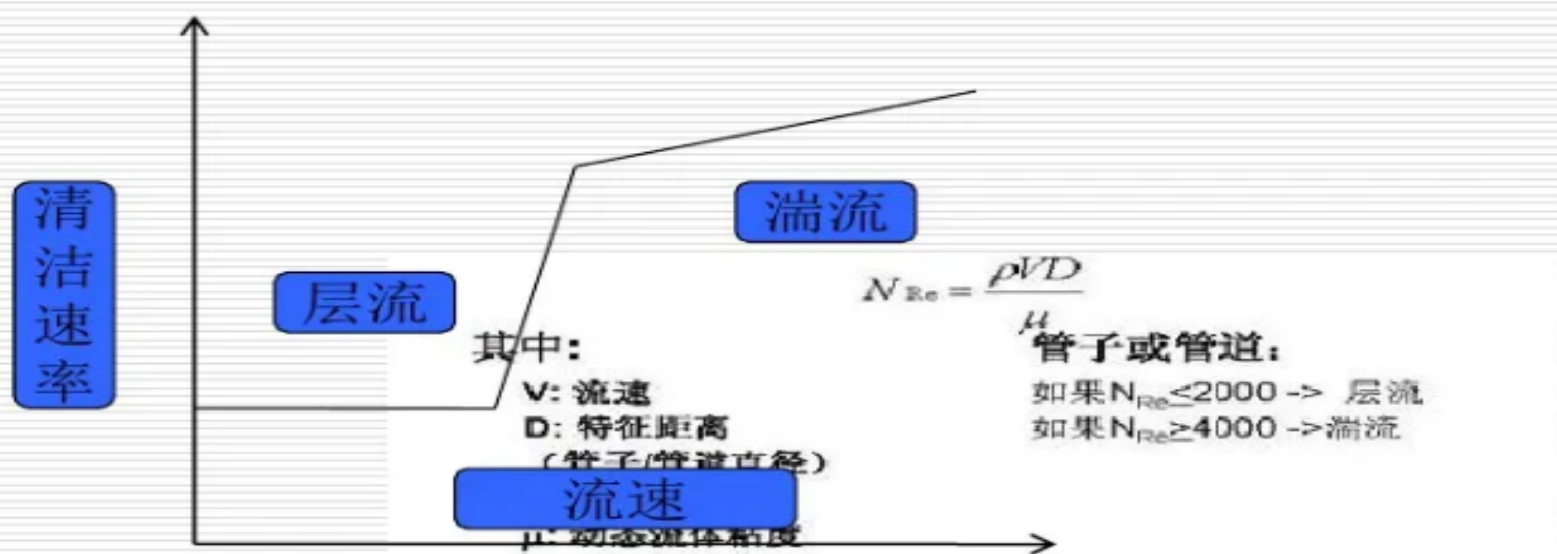
2. 对容器采用喷淋法清洁，对管道采用压力法清洁

3. 极少的手工操作，重复性高。

---

$$N_{Re} = \frac{\rho V D}{\mu}$$

# 层流、湍流



## 20度水中圆形管道湍流所要求的流速和速度

管子直径（英寸）	速度（米秒）	流速（升分）
0.5	0.3048	2.728
1.0	0.1615	5.910
1.5	0.1067	8.637
2.0	0.08230	11.820

备注：通常对于盲管或垂直管路，为了清洁干净要求管道中水的流速要大于湍流所需要的流速1.52米每秒

### 防止容器底部积水

底部出口的大小（英寸）	容器排水速率估算（LM）
0.5	5.0
1.0	45.5
1.5	140.9
2.0	268.2
2.5	454.6

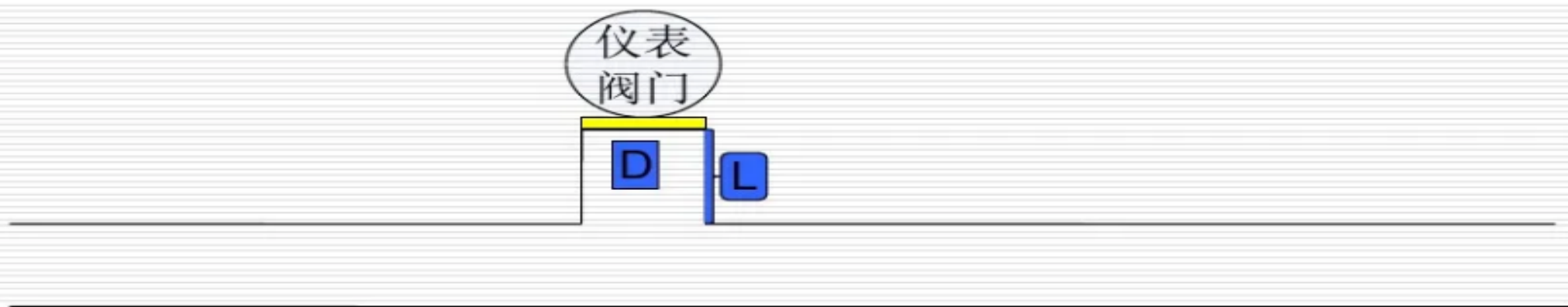
# 喷淋球覆盖率的检查

---

- 核黄素覆盖测试检查法：
  - 1.把核黄素均匀涂布在设备内表面
  - 2.干燥
  - 3.按照预定的清洗规程启动CIP
  - 4.干燥
  - 5.采用黑光灯检查
  - 6.合格标准：无核黄素残留，在黑光灯照射下无银光
-

# 管道盲管

为有效和可重复的清洗通常要求管路系统中的分叉口和交接口的 $L/D$ 小于2.0



# 制定清洁规程

---

- ❑ 制定**SOP**的清洁验证的先决条件
  - ❑ 通常参照设备的说明书制定详细的规程，规定每台设备的清洗方法，并保证具有良好的重现性。
  - ❑ 清洁规程的要点：
    - ❑ 系统的拆卸
    - ❑ 预清洁
    - ❑ 清洁剂、浓度、溶液量、水质量；
    - ❑ 时间、温度、流速、频次、压力
    - ❑ 消毒（浓度、方法、用量）
    - ❑ 装配（按说明书要求）
    - ❑ 干燥（明确干燥方式和参数）
    - ❑ 检查（符合预定的标准）
-

# 清洁方法设计总结

---

- ❑ 1. 湍流的清洁速率远大于层流的清洁速率
  - ❑ 2. 盲管与垂直管道的清洁液速率要大于湍流所要求的速率，通常要求大于**1.52**米每秒。
  - ❑ 3. 在设备设计时需要考虑盲管的清洁问题，通常要求L/D小于**2.0**
  - ❑ 4. 喷淋球的覆盖率检查
  - ❑ 5. CIP清洗过程中避免设备底部积水
  - ❑ 6. 有效、可靠和反复的清洁要求湍流。
-

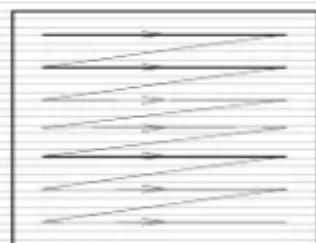
# 清洁分析方法的验证

- 通常清洁分析方法验证包括：取样方法验证与检验方法验证。
- 棉签取样方法验证：
- 取样过程需要经过验证，通过回收率试验验证取样过程的回收率和重现性，通常取样回收率和检验方法回收率结合进行，总回收率一般不低于70%，RSD不大于20%。
- 验证方法如下：
- 准备一块与设备表面相同材质。
- 在钢板上画出10\*10cm的区域。
- 将5倍限度量的待检测物溶液，定量装入经校验的注射器。
- 其溶液应尽量涂抹在10\*10cm的区域表面。
- 自然干燥或电吹风温和干燥
- 用选定的擦拭溶剂润湿棉签进行擦拭（示意图如下）
- 重复以上规程3次

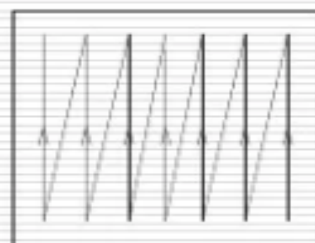
# 棉签擦拭取样方法验证

---

- 将擦拭棉签分别放入棉签管中，加入预定溶剂5ml，超声。
- 用经验证的检验方法检验，计算回收率与RSD
- 下面是棉签擦拭取样的方法：



第一步



第二步

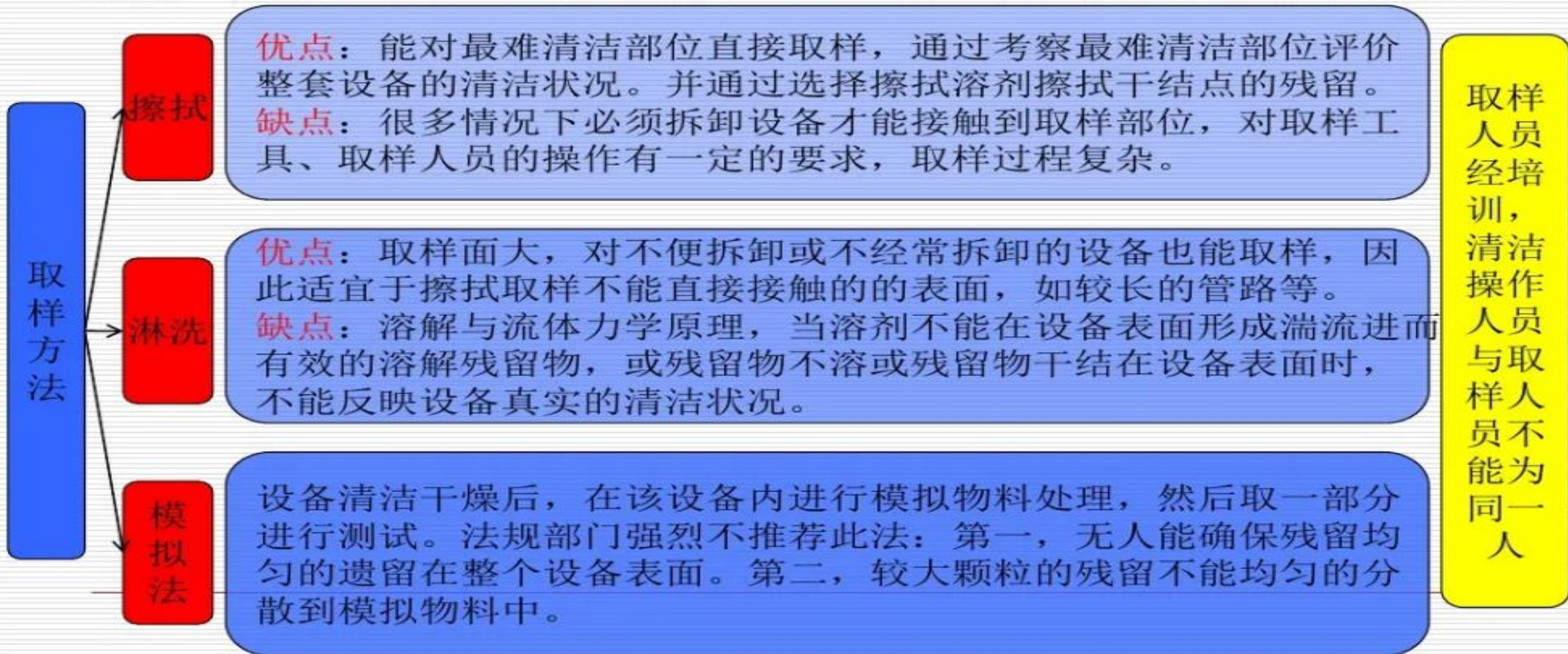
---

# 淋洗液取样方法验证

- 通常淋洗液取样方法不做回收率验证；定量检查应做回收率验证，可以利用淋洗溶剂冲洗已知量的分析物回收率，回收率通常应不低于**95%**。
  - 淋洗的取样方法根据管路设计，选择淋洗线路下游或最低点几个取样口，分别按照微生物取样和化学取样规程在最后一步淋洗近结束时取样。
  - 淋洗法的样品可以直接检测，也可以稀释后检测，但是无论是直接检测还是稀释检测，如果外观检测有异物或色差，则可直接判断不合格。
-

# 取样方法和取样点的确认

通常设备的清洁验证中如何确定合适的取样方法和取样点是验证方案的关键部分，取样点的确认必须有充分的理由，并且能代表是设备最难清洁点。



# 取样方法和取样点的确认

取样点

应在方案  
中体现

通常不可能擦拭设备的全部表面，因此应该选择设备的最难清洁部位作为取样点，这些区域代表清洁难度和残留水平方面代表着清洁规程最大程度的挑战。

微生物取样与化学取样应不能在同一个区域进行

如果进行微生物取样，应包括微生物的可能最差区域，例如较难靠近的地方或可收集水的排水区域。

# 清洁验证

---

- 清洁验证的定义
  - 职责
  - 清洁验证和清洁确认
  - 清洁验证的前提要求
  - 清洁验证的评估
  - 目标化合物的选择
  - 接受标准的计算
  - 取样点的确认
  - 变更和验证状态的回顾
-

# 定义

---

- 清洁验证是用书面证据证明批准的清洗规程可以对设备进行有效的清洗并使清洗后的设备适用于产品的制造或包装。
  - 清洁验证的目的就是证明经过清洁程序清洁后，设备上的残留物达到规定的清洁限度要求，不会对即将生产的产品造成污染
  - 清洁验证包括：
    - 生产结束至开始清洁的最长时间（待清洁设备保留时间）
    - 已清洁设备用于下次生产前的最长保存时间（洁净保留时间）
    - 连续生产的最长时间。
-

# 职责

项目经理

确保与清洁验证相关设备清洗规程的开发和批准、分析方法的验证、目标活性成分的计算和选择以及清洁规程的实施过程全部按计划进行。

系统负责人  
用户

定义设备清洗规程，确保设备按照清洁规程的要求进行相关的验证活动在引入新的设备时负责评估对清洁验证的影响，确保在法规前提下对系统进行验证和使用，确保系统的操作人员经过相关的培训

实验室人员

准备相关的分析方法验证草案和报告，确保按照相关的规程进行分析方法验证，用经验证的分析方法对样品进行检测。

技术支持  
人员

在新产品引入时负责评估其对于清洁验证的影响。

验证人员

验证项目主计划和相关验证的总结报告的准备和批准，按照验证计划中定义的行为，对相关验证文件的批准，例如标记物的计算和选择。特别针对产品质量方面的影响，对验证项目提供GMP和法规的支持。

# 清洗验证和清洁确认

---

- 清洁确认是提供证据的过程，以表明清洗操作在某一情况下可以符合预先的要求，
  - 清洁确认可以在以下情况进行：
    1. 新产品的引入
    - 2. 临床试制样品的制造
    - 3. 清洗规程的开发
    - 4. 制造频率极低的产品
  - 备注：日常的清洗规程必须是经过验证的
-

# 清洁验证的前提条件

---

- 一、设备和设施的设计
  - 设计是否易于清洁和检查
  - 是否对自动系统进行了验证。
  - 二、清洗规程的开发
  - 清洁规程是否全面、详细、准确并经批准
  - 是否定期的清洁规程进行回顾
  - 设备经过验证
  - 分析设备经过验证
  - 检验方法经过验证
-



# 目标化合物的选择

- 一般药品都是有活性成分和辅料成分组成，对于接触多个产品的共用设备，所有这些残留物都是需要清洁干净的，在清洁验证中没有必要对所有的残留物制定标准一一检测，因为不切实际也没有必要，在一定意义上，清洁过程是一个溶解过程，因此通常的做法是各组分中最难清洁（溶解）物质，作为参照物，通常相对于辅料，活性成分更显重要，将直接影响下批产品的

产品名称	毒性	溶解性	已知的清洁问题	颜色香味与味道	产量
A	10ug/cm <sup>2</sup>	易溶	无	无	10%
B	40ug/cm <sup>2</sup>	溶解	无	无	20%
C	50ug/cm <sup>2</sup>	溶解	无	无	50%
D	50ug/cm <sup>2</sup>	微溶	有	有	20%

# 限度和可接受标准

---

- 1. 目测
  - 每个清洗验证方案中都必须包括目测接受限度
  - 在每次清洗后都必须检查并记录。
  - 目测检查的时候应包括地面、墙面、顶棚。
  - 应该作为清洁验证的第一限度。
  - 2. 化学残留
  - 浓度限度：**10PPM**
  - 千分之一限度：
-

# 浓度限度10PPm

---

- 1.浓度限度：十万分之一
  - 在下一产品中的残留物数量级别应不超过十万分之一（**10ppm**），最高允许十万分之一残留，设下批产品的生产批量为**B**（**kg**），因残留物浓度最高为 **$10 \times 10^{-6}$** 即**10mg/kg**，则残留物总量最大为 **$B \times 10 \times 10^{-6} = 10B$** (**mg**)；单位面积残留物的限度为残留物总量除以测量的与产品接触的内表面积，设设备总内表面积为，则表面残留物限度**L**为 **$10B/S_A$** (**mg/cm<sup>2</sup>**)。
-

# 千分之一限度计算

- 从产品A（要除去的产品）变更为产品B（将要生产的产品）
- $$R \text{ (mg/cm}^2\text{)} = \frac{MTD_{A, \min} \times B\text{产品最小批产量} \times 0.001}{LDSD_{B, \max} \times \text{设备共用面积}} \times \text{擦拭面积} \times 50\%$$
- $MTD_{A, \min}$  = 每次最少给药数 × 有效成分含量 × 每日最少给药次数
- $LDSD_{B, \max}$  = 每次给药数 × 单位包装质量 × 每日最高给药次数。
- $MTD_{A, \min}$ : A产品最低有效治疗剂量。
- $LDSD_{B, \max}$ : B产品最大日剂量。
- 50%: 取样的有效性。
- 0.001: 系数是结合三个0.1的安全因素推算的: ①一般药品在常用剂量的0.1时, 就不显现药理活性; ②清洁工作效果, 即清洁残留物带入下一产品常用剂量内的可能性设置为上一产品剂量的0.1; ③在前面基础上再增加的安全系数0.1, 综合为

---

## □ 分析方法验证

---

# 验证项目及要求

验证项目	鉴别	杂质定性	杂质定量	含量	溶出度
专属性	+	+	+	+	+
线性	-	-	+	+	+
范围	-	-	+	+	+
准确度	-	-	+	+	+
精密度-重复性	-	-	+	+	+
精密度-中间精密度	-	-	+	+	+
检测限	-	+	-	-	-
定量限	-	-	+	-	-
耐用性	+	+	+	+	+

# 专属性

---

## 专属性

### ■ 鉴别反应

- 鉴别试验应确证被分析物符合其特点。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分区，需确证含被分析物的供试品呈正反应，而不含被测成份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。

### ■ 杂质检查

- 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，并且具有适宜的准确度和精密度。
  - 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，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。
-

# 专属性

---

## ■ 含量测定

- 在杂质可获得的情况下，对于主成份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了的或药典方法进行比较，对比两种方式测定的结果。也可采用破坏性试验，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，证明含量测定成份的色谱峰中不含其它部分。

## ■ 接受标准

- 应当证明潜在的干扰成份不会对方法的性能产生负作用。对于层析分离方法，要球证实杂质之间、杂质与主峰之间的选择性；分辨率 $\geq 1.5$ ，如果证明确实可行，某些情况下分辨率低于**1.2**也可以接受。
  - 空白对照应无干扰。
-

# 线性

- 可用一储备液经精密稀释或分别精密称样，制备一系列的供试品进行测定，至少制备5个浓度（通常选取50%、80%、100%、120%、150%）。
- 可接受标准

含量类型	相关系数	截距
含量方法	$R \geq 0.9997$	$\geq 2.0\%$
含量杂质方法	$R \geq 0.995$	$\geq 20\%$

# 范围

- 范围指能达到一定精密度、准确度和线性，测试方法适用的高低限浓度或量的区间。分析方法的范围应根据具体分析方法以及对线性、准确度、精密度的结果和要求确定。
- 可接受标准

- 对于原料药和制剂的含量测定，范围应为测试浓度的80%~120%
- 杂质测定，范围应为测试浓度的50%~120%。
- 含量均匀度，范围应为测试浓度的70%~130%，根据某些剂型特点（如气雾剂），此范围可适当放宽。
- 溶出度范围应为标准规定范围的±20%。如某一剂型的溶出度规定，1h后溶出度不得小于20%，24h后溶出度不得小于90%，则考察此剂型的溶出度范围应为0~110%。
- 若含量测定与杂质检查同时测定，用百分归一化法，则线性范围应为杂质检查限定的50%~100%与含量限定的200%

# 准确度

准确度系指用该方法测定的结果与真实值或参考值接近的程度，一般以回收率%表示。准确度为定量测定的检测项目均需要验证其准确度，如杂质定量检查、含量和溶出方法，分析方法的准确度能够确保：**1)** 样品中的待测物全部溶解；**2)** 待测物全部从检测器中检出。准确度的测定至少选取包括标准浓度在内的至少**3**个浓度级别（通常选取**80%**、**100%**和**120%**），每个浓度级别至少测定**3**次，计算测定结果的回收率。

---

# 准确度

---

## ■ 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；
- 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

- 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；
- 用本法所得结果与已建立准确度的另一方法测定结果进行比较。

## ■ 杂质

- 往样品中加入已知量的杂质进行测定；
  - 若不可能得到某种杂质或降解产物，可把此方法的分析结果与另一已验证的或药典的分析方法获得的结果进行比较。
-

# 准确度

## ■ 回收率测定方法

- 空白回收（制剂空白）= ； 加样回收=
- 其中：M为测定值；P为背景值；A为已知值（真实值）。
- 同一样品，制备三个浓度的供试品，每个浓度分别制备三份供试液，例如：取相同量样品9份（一般为样品取样量的一半）。设计三个浓度，按不同比例加入对照品。中间浓度一般按1:1比例加入；低浓度和高浓度可分别选0.5:1和1.5:1的比例，加入对照品的量要适当，保证供试品溶液的浓度在考察的线性范围内

## ■ 可接受标准

- 含量和溶出
- 各浓度下的平均回收率应在98.0%~102.0%之间，9个回收率数据的相对标准差（RSD）应不大于2.0%。中药一般应满足以下规定：回收率计算值在95%~105%范围，相对标准偏差

# 准确度

---

## □ 杂质

杂质水平	接受标准
$\leq 0.2\%$	绝对值 $\pm 0.05\%$
$0.2\% \sim 1.0\%$	相对值 $\pm 20\%$
$> 1.0\%$	相对值 $\pm 10\%$

---

# 精密度

---

## ■ 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接近程度。
  - 在方法规定的线性范围之内至少测定**9**次（如**3**个浓度级别**80%**，**100%**和**120%**，每个浓度级别测定**3**次）
  - 或在**100%**的试验浓度，至少测定**6**次。
  - 每种测定应从样品称量或者高浓度溶液的稀释开始。
-

# 精密度

---

- 中间精密度：系指同一实验室不同日期、不同仪器、不同分析人员对同一样品、采用同一方法处理样品所得结果之间的接近程度。
  - 验证方法：同一批样品每位分析员准备六份进行测量，计算两人之间平均值的差异。
    - 重现性：一般实验室不进行此项考察，只有当分析方法将被法定标准采用时，才进行重现性试验。建立药典分析方法时常需通过协同检查得出重现性的结果。
-

# 精密度

- 可接受标准
- 重复性
- 原料药方法验证时，API的RSD $\leq$ 1.0%；制剂方法验证时，活性成份的RSD $\leq$ 2.0%；杂质方法验证时，每个杂质的RSD $\leq$ 20%。
- 中间精密度
- 原料药方法验证时，平行六份样品的RSD $\leq$ 1.0%，两人之间的平均值之差 $\leq$ 1.0%。
- 制剂方法验证时，平行六份样品的RSD $\leq$ 2.0%，两人之间的平均值之差 $\leq$ 3.0%。
- 杂质方法验证时，平行六份样品的RSD $\leq$ 20.0%，两人之间的平均值之差

结果	限度
$\leq 0.2$	绝对
0.2~1.0	相对
$> 1.0$	相对

# 检测限和定量限

- 检测限系指在确定的试验条件下，试样中被测物能被检测出的最小值，定量限系指在确定的试验条件下，试样中被测物能被准确测定的最小量，其测定结果应具有有一定准确度和精密度，杂质限度检查时应验证其方法的检测限，杂质定量检查时应验证其方法的定量限。确定某一分析方法检测限和定量限的方法：
    - 目视法（直观评价，非仪器分析）
  - 可用于非仪器的分析方法，也可用于仪器的分析方法，用已知浓度的被测物，试验出能够被可靠的检测出的最底浓度或量；对于定量限需要有一定的准确度和精密度。
-

# 检测限和定量限

## ■ 信噪比

- 该方法适用于出现基线噪音的分析方法。信噪比的测定是通过比较含已知低浓度被分析物的样品与空白样品的测试信号，确定被分析物可被确切地检测的最小浓度，典型的信噪比为**3:1**；对于定量限典型信噪比为**10:1**。

## ■ 根据响应值得标准差和斜率

- 检测限： $LOD=3.3\delta/S$
- 定量限： $LOQ=10\delta/S$
- $\delta$ ：响应值得标准差； $S$ ：校正曲线斜率。
- 效率 $S$ 可从被分析物的校正曲线来估算， $\delta$ 的值可有多种途径估算。如：
  - 根据空白的标准差
  - 通过几份空白样品的分析，然后计算其响应值得标准差，测出分析背景响应值得大小
  - 根据校正曲线
  - 通过被分析物样品的分析来研究其标准曲线，回归线的剩余标准差或回归线的y轴截距标准差都可作为标准差。

# 耐用性

---

1. 耐用性系指测定条件下发生小的变动时，测定结果不受影响的承受程度。耐用性主要靠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，就应该考虑其耐用性。如果测试条件要求苛刻，则建议在方法中予以写明。
2. 典型的变动因素包括：液相色谱法中流动相的组成、流速、PH值、不同厂家或不同批号的同类型色谱柱、柱温等。气相色谱法中载气流速、不同厂家或批号的色谱柱、固定相、载体、柱温、进样口和检测器温度等，参数改变标准一般要求如下：

# 耐用性

项目	考察范围
进样体积	±20%
流速	±20%
波长	±5nm
柱温	±
流动相组成	±5%
PH值	±0.2
超声时间	±5%
样品	根据产品特性制定最长时间

# 耐用性

- 在评估参数时需要获得改变条件后与标准条件下的测量结果，通过对改变条件后与标准条件下结果的比较来评估方法的耐用性，计算公式如下：

□  $\%Difference = 100 - 100 \times Rm/Rs$

□ 其中：Rm改变条件后的含量结果；

□ Rs标准条件获得的含量结果。

□ 原料药和制剂

□ 主要成分的含量差异不得大于**1.5%**。

□ 杂质

杂质水平	接受标准
≤0.2%	±0.05%
0.2%~1.0%	±20%
>1.0%	±10%