

法规制药实验室中的无机杂质分析

基础导论

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

目录

序言	5
1. 前言	7
背景	7
基础导论的内容	7
资源	7
2. 元素杂质方面的监管和法规认证	9
美国	9
欧洲	10
国际协调会议 (ICH)	10
药品检查公约/合作计划 (PIC/S)	11
药典	11
FDA 21 CFR Part 11 和 EU GMP Annex 11——电子记录和电子签名的规定	12
医药产品的开发、注册和市场销售	12
3. 实验室的要求	13
样品和数据流程的法规要求	13
整个制药实验室的质量保证和法规遵守	14
整个流程的法规遵循	14
用于特定工作流程步骤的法规遵循	15
4. 分析设备、方法和系统的验证	17
分析数据质量的组成部分	17
设备	18
分析方法和程序的验证	20
5. 根据 FDA Part 11 和 EU Annex 11 法规管理电子记录	23
法规监管的要求和建议	23
对仪器和供应商的支持的要求	25

6. 根据美国药典通则 <232>/<233>/<2232> 分析元素杂质	27
新美国药典通则关于元素杂质分析的发展	27
元素的选择和限量	28
仪器和程序	30
药典（仪器）程序	33
替代程序的验证	38
7. 医药实验室的其它应用	39
有机溶剂的分析	39
元素形态的测定	39
全扫描或半定量分析	40
参考文献	41
词汇表	43

序言

美国食品药品监督管理局（FDA）和类似的国际医疗机构要求对药品中的有害杂质进行控制，并要求最大程度地消除这些有害杂质。药典已经规定了医药产品中的金属残留限量，同时开发了用于控制这些杂质的方法。例如，自从 1905 年以来，美国药典（USP）就已经定义了程序作为通则 <231>，即大家都知的重金属限量测试。然而，目前的药典方法采用的是旧方法，缺乏能够正确检测高毒性金属元素含量所要求的灵敏度、特异性和回收率。这的确是一项挑战。法规部门正在制定旨在将更多元素控制在更低浓度的强制性指令，新药典方法将使用更现代化的仪器取代原来的化学法。

药物开发和质量控制实验室中的分析受到严格的法规要求，其分析方法受到法规要求的影响。法规环境下的工作对实验室的管理和运行都有特定的要求。例如，仪器设备也需要验证，分析方法和系统需要验证。日常操作需要遵循书面的规程，每个分析步骤和结果都应准确记录。计算机系统和电子记录需要特别注意，必须确保分析数据的安全性、可用性和完整性。

随着化学法检测向仪器分析的转变，新的人员类型将需要面对食品药品监督管理局（FDA）和其它的法规机构。它们不仅包括仪器制造商和耗材、备件供应商、操作和维护仪器的技术员，还包括信息技术部门，这是因为所有仪器都是计算机控制的。

本基础导论“法规制药实验室中的无机杂质分析”概述了法规要求，为分析人员、实验室主管、信息技术部管理员、质控经理和验证专家在从仪器验证、方法和系统验证到电子记录法规遵循的整个过程提供指导和帮助。

书中涉及的概念、举例、模版和推荐程序都是基于我们 20 多年多国工作的经验，并结合了应用于安捷伦科技公司和 Labcompliance 公司的验证和认证实践。本导论的读者将从中掌握如何提高验证和认证过程的速度，从而避免繁琐的重复劳动和获得对审计和检查的信心。

一般情况下，法规和质量标准在较长时期内不会有明显变化。而监管机构和行业特别小组制定的指南则更新较为频繁。其中有关解释、检查和实施实践的部分变动最为频繁。在今天看来

恰当的做法，到明天却未必适用。因此，所有信息的及时更新是非常重要的，只有利用在线的信息工具才可能完成，如互联网。考虑到这一因素，我们推荐以下网站，它们提供了实验室法规方面的最新信息：

- www.fda.gov
美国食品与药品管理局网站，详细列举了生物制药行业的法规和指令
- www.ema.europa.eu
欧洲药品管理局网站
- www.ich.org
国际（药品注册）协调会议（ICH）网站
- www.picscheme.org
药物检查合作计划网站
- www.usp.org
美国药典网站
- www.who.org
世界卫生组织网站
- www.agilent.com/chem/icpms
ICP-MS 更新技术信息网站
- www.labcompliance.com
提供与实验室所有质量和法规遵从问题相关的教程、参考资料和定期更新

Ludwig Huber 博士

全球 FDA 食品与药品管理法规认证的首席顾问
Labcompliance 公司
联系方式：ludwig_huber@labcompliance.com

Ed McCurdy

ICP-MS 产品市场经理
安捷伦科技
联系方式：ed_mccurdy@agilent.com

1. 前言

金属元素杂质是那些存在于环境中的元素或者在药物或辅料生产过程中使用或引入的元素。出于这两个原因，在制药实验室里，这些金属元素必须要进行监测：

- 有害金属在原料测试到成品药质控的整个生产过程中必须要进行控制
- 金属可能会影响配方的稳定性和加速药物的降解

背景

长期以来，金属杂质在食品和药品中一直是被监测的。目前的重金属限量测试，USP <231> 方法属于药典要求。这个方法已经有 100 多年的历史了，它使用硫代乙酰胺与金属元素反应形成硫化物。将显色的硫化物沉淀的强度与铅标准溶液进行比较。这个方法是假设每个特定元素的反应效率都是 100%，或与铅标准溶液具有相同的反应方式。

过去十几年来，已经发现硫化物沉淀方法的效率无法满足潜在有害金属元素的浓度控制要求，需要有更先进的仪器方法来替代它。

药物中无机金属元素来源众多。例如：

- 原料（植物、动物蛋白）
- 辅料（稳定剂、包衣料、粘合剂、脱模剂、香精、色素）
- 原料药（APIs）和药品生产过程中引入的污染物。例如，管路、容器及其他设备浸出的金属
- 作为反应催化剂的金属
- 包装材料中的可浸出的金属杂质

某些金属还可被用作药物活性成分而非污染物起治疗作用，或者它们被用作必须的矿物或微量元素。例如，铂化合物顺铂、卡铂和奥沙利铂被广泛用于癌症治疗，铝用作抗酸剂，锌是胰岛素混悬剂的一部分，铁用于贫血症的治疗和预防。

本基础导论的内容

首先是文献综述，然后本导论将讨论从研发到生产的整个药物过程适用的法规。接着将提供关于实验室法规要求的更详细的信息。第三节将引导读者了解样品和数据流的法规要求，包括从采样到测试报告和其它文件的存档。第四节将侧重分析仪器的确认和分析方法、软件和完整系统的验证。需特别指出的是，本节还将讨论药典程序验证和分析方法转换。第五节将介绍符合食品药品监督管理局（FDA）和国际法规机构要求的电子记录管理所必须的信息。

第六和第七节将侧重医药行业中金属元素杂质分析的应用。第六节将介绍药品和原料药中相关杂质的新的美国药典分析程序，第七节将对其它重要应用作一概述。

资源

本导论的目的是概要介绍有关金属元素杂质的法规要求，还有大量可用资源供读者进一步地详细了解。这些信息来自法规部门、合作的行业/机构的研究小组和个人作者。法规和其它官方文件将在下一节进行讨论。

很多人作者发表的文章以传统期刊的文章、在线文献和传统的书籍发表。对于在线文献，读者可以参考一些知名的搜索引擎。这部分章节概述了一些个人作者或组织发表的文章。

- Blake [1] 论文“协调美国药典、欧洲药典和日本重金属测试程序”探讨了传统比色法的严重不足
- Wang et. al. [2] 在 1990 年确认了传统比色法用于现在分析物的限制和不足，如灵敏度、选择性和精确度。研究小组探讨了与 ICP-MS 相比，传统的比色法用于医药材料中痕量金属元素分析的限制和不足
- Lewen 和同事 [3] 就传统检测方法与 ICP-MS 用于各种药典中要求的金属元素的检测的比较进行了详细的评价

- Lorenz 和同事 [4] 介绍了有机金属（形态）分析在指导合成纯化方案中的重要性。研究小组还演示了液相色谱与 ICP-MS 联机用于原料药中有机金属的选择性定量分析
- Lira 和同事 [5] 介绍了 ICP-OES 作为比色法的替代技术用于辅料中的重金属分析
- DeStefano 和同事 [6] 详细阐述了 USP <232> 中规定的金属元素杂质的选择和限量要求的毒性和法规基础
- Fliszar et. al. [7] 介绍了 ICP-OES 对药品包装材料中可浸出金属元素的检测
- Li 和同事 [8] 和 Xia 和他的研究小组 [9] 利用 ICP-MS 分析中药中的有害重金属
- Hussain 和同事 [10] 举例说明了执行 2011 年 5/6 月的修订版 USP <232>/<233> 法规中如何验证 ICP-OES 的性能
- 安捷伦科技已经发表了两个关于制药实验室认证和法规的基础导论：分析仪器认证和系统验证 [11] 和分析方法验证 [12]。它们对于了解实验室法规和验证是非常有帮助的。安捷伦还发表了有关 ICP-MS 基础导论，美国药典已经将 ICP-MS 作为药品中金属元素杂质检测的两种推荐仪器之一 [13]
- Huber 已经出版了分析实验室认证的参考书 [14]。该书涵盖了分析实验室认证的所有内容，包括设备、分析方法、参考标准品和人员资格确认
- 优良自动化生产质量管理规范论坛（GAMP）已经发布了用于计算机验证的指南。最新版本已经于 2008 年发布 [15]。这些指南专门针对通用计算机系统开发，但由于其重要性目前也被用于计算机化实验室系统的验证

2. 元素杂质方面的监管和法规认证

医药行业是受法规监管最严格的领域之一。在所有的工业化国家和越来越多的发展中国家里，政府相关部门利用法律、法规和指令规范管理药物的开发和生产。最重要的法规称为 GxP 法规，包括优良实验室规范（GLP），优良临床规范（GCP）和优良生产规范（GMP）。除此之外，还有一些特殊的法规要求，包括产品标签、法规环境下的计算机使用和销售授权。

法规的主要目的是确保药品的质量、安全和有效。对于新药的销售授权，管理部门将评估研究数据和决定药物的益处是否大于药物不够安全带来的风险。医药行业的法规通常是遵循现代质量体系的，极为重视数据的精度、可靠性和完整性。

食品药品监督管理局和国际法规机构要求进行仪器认证、分析方法认证以及系统确认。未认证或不完整的认证可能会导致法规的惩罚，如停止药物和原料药的发货。该假设基于在未经或不完整的仪器认证和方法验证下可能得到错误的分析测试结果。由于法规的重要性，本章节主要侧重法规和规范性指导。

本章节介绍了食品药品监督管理局和欧洲健康机构的作用，并列出了最重要的文件。还介绍了其它组织和特别小组制订或控制的对医药行业有重要影响的任务和文件，如 PIC/S、ICH 和药典。

美国

在美国，食品药品监督管理局监管药物的开发和生产。食品药品监督管理局（FDA）目标是通过确保人和动物的药物和生物药物的安全、有效和质量来保护人们的健康。除了药物，食品药品监督管理局还管理控制食品、烟草、医疗器械和化妆品。食品药品监督管理局根据联邦食品、药品和化妆品法（FD&C）行使自己的法定权力。此法律来源于 1906 年颁布的纯食品和药品法，这个法律旨在禁止非法添加和虚假标签的食品和药品在各州之间进行买卖。

第一版联邦食品、药品和化妆品法（FD&C）于 1938 年在国会通过，这是首次要求公司在产品推向市场前必须证明新药的安全性。它还涵盖了化妆品和治疗设备，以及包括旨在保护消费者的定期更新。

1962 年的修正版要求，所有的药物必须是有效和安全的，并赋予食品药品监督管理局（FDA）权力监管药品广告描述。1976 年颁布的医疗器械修正案赋予食品药品监督管理局保证包括诊断产品的医疗器械的安全和有效的权力。

法律是很概括的描述，通常不会描述实施和执行的细节。为了实施法律，联邦当局，如食品药品监督管理局颁布规则和法规。这些法规在联邦公报中以联邦法规（CFR）的形式发布，并告知公众和业界具体实施细节。

通常情况下，对于行业和食品药品监督管理局调查员实施和执行来说，法规对具体要求的定义都不够详细。因此，食品药品监督管理局对很多项目都制定了检查和行业指导原则。食品药品监督管理局的工作人员和行业可以在互联网上获得这些信息（www.fda.gov；搜索 FDA 指南）。指南通过解释或澄清国会或食品药品监督管理局发布的要求，以及解释行业如何遵守这些法律法规的方式，为受监管行业提供援助支持。指南还提供了具体的审查和执行的办法，以确保食品药品监督管理局的调查员能以高效、公平和一致的方式完成任务。尽管法律法规是强制性的，但是指南是非强制性的。行业可以决定采用其它的方式符合法规的要求。

有关制药实验室金属元素杂质的重要 FDA 指南是：

- 药物生产中超标结果的调查 [16]
- Part 11，电子记录；电子签名——范围和应用 [17]

食品和药品管理局的规定和指南是相当稳定的，通常几年都不会改变。比法规更动态变化的是检查和实施细则。相关信息可以在 FDA 检查文件里找到，如警告信、设施检查报告（EIRs）和 483 设备检查观察文件。最关键的是食品药品监督管理局（FDA）的警告信。一旦公司违法，警告信将被发到公司。公司必须在 15 个工作日内响应。如果没有响应或响应不足，食品药品监督管理局将采取进一步的行动，包括延迟新药批复，进口警告和否决。自 2003 年 3 月以来，警告信由更高级别的 FDA 官员审查，并反映了 FDA 的目前的意见。

警告信在食品药品监督管理局（FDA）网站上公布：www.fda.gov/ICECI/EnforcementActions/WarningLetters。唯一的问题是，数以千计的警告信大部分只涉及药品市场营销和标签问题，所以很难发现实验室感兴趣的内容。好在有些网站只发布有关 GxP 问题的警告信。例如，www.fdawarningletter.com 收录了大量有关仪器确认、方法验证和分析系统验证的警告信。

欧洲

在欧洲，药品是通过欧洲药品管理局（前 EMEA，现 EMA）评估、批准后才能进入市场。它是欧盟的分散机构，总部设在伦敦。其主要的责任是保护和促进公众的健康。人用医药产品委员会（CHMP）为 EMA 提供针对人用药物的科学观点建议。与美国一样，欧洲的药品必须要获得销售许可之后，才可以进行分销。销售许可可以通过下面的方式申请：

- 集中注册程序
- 相互认可注册程序
- 单一国家注册程序

最常用的程序是集中注册程序。单一国家注册程序主要是用于销售许可只在某个单一国家的申请，申请人可提名这个国家作为一个参考地点，并使用相互认可注册程序申请在其他国家的批准。除非是有安全风险，相互认可注册的目标国家都会接受营销许可。

生物药品的所有营销授权必须使用集中注册程序。鉴于这项规定，产品要经过欧洲药品局评估，在欧洲药品局中，人用医药产品委员会（CHMP）执行应用方法的实际评估并提供科学意见。基于这个意见，由欧盟决定产品是否给与授权。欧盟指南中规定采用优良生产规范（GMP）管理药品生产（在欧洲也称为医药产品）：欧盟医药产品管理条例，第 4 卷：人与兽用医药产品的优良生产规范 [18]。

关于金属元素杂质最重要的文件是“欧洲药品局（EMA）关于金属催化剂或金属试剂残留限量的指南” [19]。这个文件建议了医药物质或药品中 14 种金属催化剂或金属试剂最大接受浓度限量值。

国际协调会议（ICH）

起源于 1990 年的国际协调会议（ICH），其目的是把欧洲、日本和美国的法规部门和三个地区医药行业的专家聚集到一起，就产品注册的科学和技术方面进行讨论。

国际协调会议（ICH）发表的指南或被各成员国签署为法律，如在欧洲，或被国家相关部门推荐为指南，如美国食品药品监督管理局（FDA）。

国际协调会议（ICH）关于金属元素杂质方面最重要的文件包括：

- **ICH Q3 系列**
该系列文件规定了原料药中杂质可接受限量的指南。最有趣的是一份概念文件和 Q3D 上的业务计划：杂质——金属杂质的指南。该指南将提供一个关于药物和原料中金属杂质定性和定量限制的全球政策 [20、21]
- **Q2 (R1)，分析程序验证：定义和方法学 [21]**
这个指南是为分析方法验证设定参数和程序的国际标准

药品检查公约/合作计划 (PIC/S)

药品检查公约/合作计划 (PIC/S) 是全球统一的法规和检查领域最重要的组织之一。其使命是领导在全球的药品领域里, 发展、实施和维护统一的优良生产规范 (GMP) 标准和检查员的质量体系。这是通过开发和推广统一的 GMP 标准和指导文件完成的; 培训主管部门, 特别是检查员; 评估 (重新评估) 检查员; 促进经营主管部门和国际组织的合作和网络。截止到 2012 年 1 月, 在 PIC/S 中已经有 40 个参与机构, 包括来自欧洲成员国、澳大利亚、新加坡、加拿大和美国食品药品监督管理局的健康机构。还有更多的组织已经申请加入药品检查公约/合作计划 (PIC/S)。最有可能的是, 那些没有自己优良生产规范 (GMP) 的新成员国将遵循 PIC/S 优良生产规范 (GMP), 它与欧盟 GMP 非常相似。如, 瑞士、新加坡和澳大利亚已经声明将 PIC/S 优良生产规范 (GMP) 作为本国的法规。

针对制药实验室 GMP 的最重要的文件是指南: 药品质量控制实验室检验 [23]。该文件的主要目的是为 GMP 检查员提供指引, 以帮助他们为检查进行培训和准备, 而且对于用户遵循法规并准备应对 GMP 的检查也是很有帮助的。

药典

药典开发特定应用的方法, 并且是法规监管的医药行业不同分析方面的通则。

美国药典

根据联邦食品药品和化妆品法第 501 条, USP 方法构成法律标准。要获得营销授权, 生产商的药物、辅料和药品必须符合已经发布的美国药典。美国药典 (USP) 已经开发了几个关于金属元素分析的通则:

- **通则 <1058> “分析仪器认证” [24]**
本章为分析仪器认证提供了一个框架。它涵盖了从安装的书面积标到初始和后续测试维护的整个过程

- **通则 <1224> “分析程序的转移” [24]**
介绍了控制的方法转移的四种不同选择和要素 [25]
- **通则 <1225> “药典方法的验证”**
定义验证药典 (定义) 方法的参数和测试。这些建议对于实验室开发和验证自己的方法也非常有帮助 [26]
- **通则 <1226> 药典方法的验证**
本章为了帮助实验室执行药典和标准方法。这些建议对实验室进行其它实验室的方法验证也非常有用 [27]
- **通则 <231>、<232>、<233>、<2232> [28–31]**
这些内容都是关于金属元素分析的。更详细的内容见本导论的第六节部分

美国药典还开发和提供用于常规分析的质控样品和分析方法精度验证的标样和有证标准物质。

欧洲药典

欧洲药典提供了使用现代仪器用于药物中金属杂质分析的通则。

- 通则 2.2.23: 原子吸收光谱 (AAS), 包括火焰和石墨炉原子吸收 (GF-AAS)
- 通则 2.2.22: 原子吸收光谱
- 通则 2.2.57: 电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-AES)
- 通则 2.2.58: 电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS)

中国药典

中国药典附录九中规定了中药中重金属元素的安全水平和几个程序:

- 比色法的限量测试
- 原子吸收和电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 用于定量分析

FDA 21 CFR Part 11 和 EU GMP Annex 11 ——电子记录和电子签名的规定

1997 年，美国食品药品监督管理局（FDA）发布了一项法规，它规定了通过美国食品药品监督管理局的电子记录、电子签名和手写签名的验收标准 [32]。这项法规称为 21 CFR Part 11，规定电子记录等同纸质记录和手写签名。法规适用于 FDA 法规监管的所有行业，包括优良实验室规范（GLP）、优良临床规范（GCP）和现代优良生产规范（cGMP）。欧洲也有相似的要求，发表于欧洲优良生产规范（GMP）的第四章（它在 2011 年进行了更新 [33]），以及 2011 年的欧盟优良生产规范指令附录 11 [34]。本导论第五章将重点介绍 Part 11 与附录 11 的要求。

医药产品的开发、注册和市场销售

药品的发现、开发和销售许可是一个漫长的过程，一般需要 10 多年。整个过程分为几个阶段，见图 1。第一个阶段是基础研究和发现活性，其结果被用于确定药效靶标和潜在药物。

一旦目标化合物被鉴定为候选药物，将对它进行临床前研究，以进行初期的安全性测试。这个阶段要符合优良实验室规范（GLP）。临床试验必须符合优良临床规范，而生产过程要符

合优良生产规范（GMP）。质量控制实验室和药物或原料药（API）的生产也要符合优良生产规范。在临床前研究之后，药品厂商要提交一个新药研究（IND）申请，在临床试验后，要进行新药申请（IND）或新的生物药许可申请（BLA）。FDA 将审查申请，并决定这个药物能否进入到下一个阶段。

一旦药物注册并可以销售，医疗机构将根据 GMP 定期进行市场上产品的测试和生产场所的巡查，以监控 GMP 法规的执行情况。一旦违反法规，有关部门将立即采取强制措施。向公司管理层发出警告信，停止产品在美国的发货，或者对非美国的公司发出进口警告。

在整个开发过程中，三大规范（GxPs）的原则是：

- 安全，相对于药物带来的益处，首先是最大限度地保证不发生不良事件
- 质量，保证高技术产品精益求精
- 功效，证明产品功效

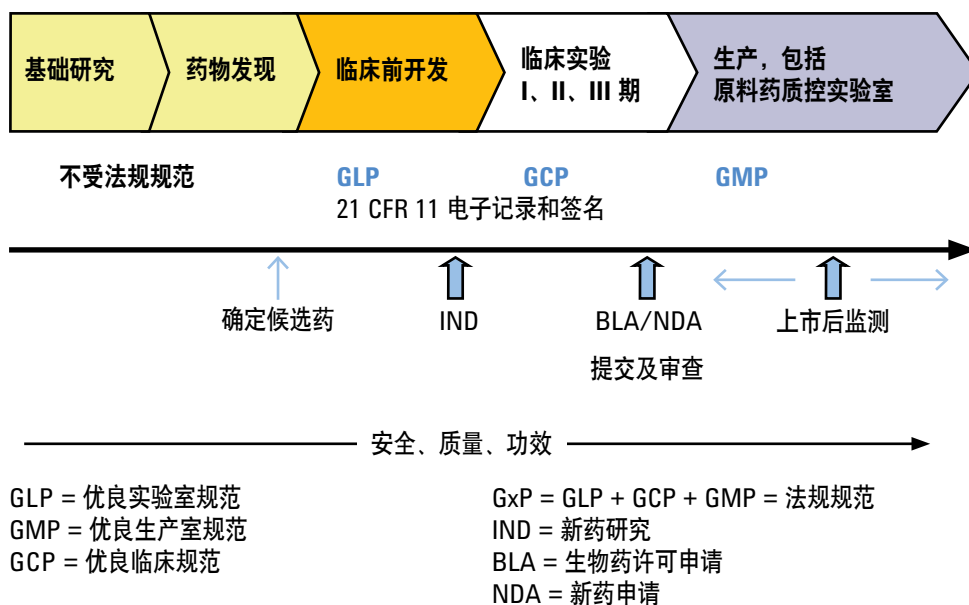


图 1. 药物开发和生产流程中的法规

3. 实验室的要求

对于生物制药实验室，至关重要是数据的可靠和准确，以及保证只有安全和有效的药物才被批准上市和发货。因此，生物医药产品开发和质控必须遵循 GxP 法规，以证明数据的质量。

本节介绍了制药实验室的 GxP 要求。当阅读完这部分内容，科学家和专业分析人员可能认为很多要求都是常识，根本不需要写入正式的法规里。然而，在法规要求的环境下，仅仅明白什么是应该做的，甚至能按这些要求去做都是不够的。最重要的是，要把做过哪些写进文件，因为检察员一定会认为没有写进文件的内容都没有做过。

虽然在原则上，列出的各项要求适用于药物开发和生产的各个阶段，但是还是应以渐进的方式用于流程的各个阶段，从临床前研究到药物质控实验室。例如，在临床 I 期的阶段，只要建立为什么分析方法适用于这个目的的文件就足矣。而在临床 III 期的阶段，所有的声明必须有实验的支持。尽管在 GMP 环境下，所有列出的要求都应该被遵循，但在早期阶段这些常常是没有必要的。

对实验室的要求可以分为两类：

- **通用的质量系统要求**
适用于公司内所有法规要求的工作。例如，文件控制、内审和人员的资格确认。它们常常被称为管理要求
- **实验室具体要求**
适用于实验室的具体情况。例如，分析方法验证、采样、产品测试和审查，以及测试报告的批准

样品和数据流程的法规要求

法规对制药实验室的总体影响可以从整个样品/数据流程得到最好的说明，见图 2。图中上部是用于法规实验室的质量保证通用要求。图中下面部分是实验室中一个典型的样品和数据流，以及主要的要求。图中的中间部分是用于整个样品或数据流程的要求。

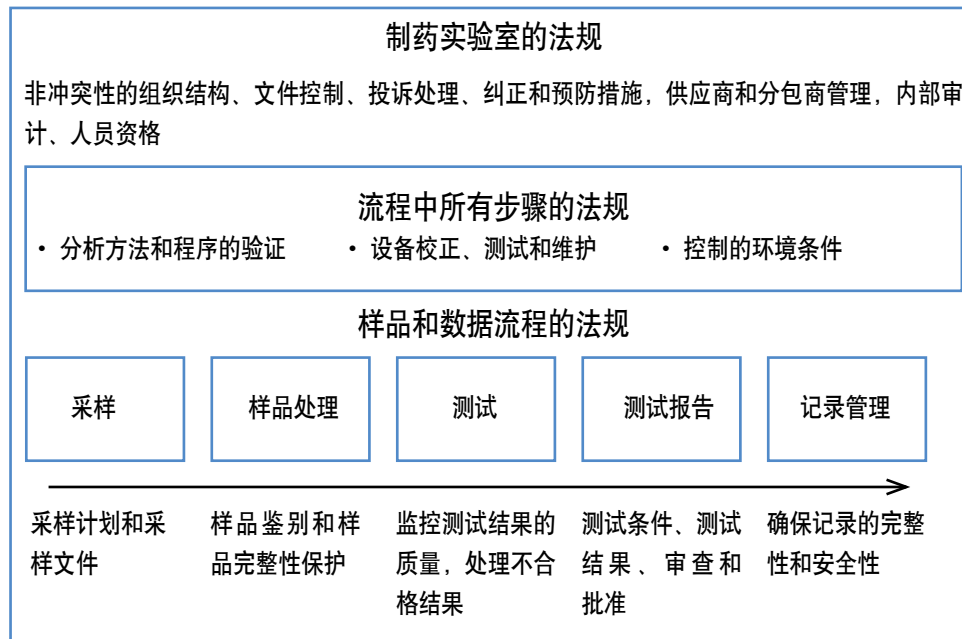


图 2. 制药实验室的法规要求

整个制药实验室的质量保证和法规遵守

制药实验室要遵守在法规行业公认的质量保证规范。它们包括：

- **文件控制**
GxPs 要求法规文件在创建、批准分发、存档和作废的过程中是受控的。典型的文件包括：政策、质量计划、总体计划、标准操作程序，以及记录，如分析测试记录和培训记录
- **组织结构与责任**
组织机构应该加以规范，确保有潜在利益冲突的部门不会对质量和数据产生不利的影 响。例如，财务和质控部门（QA）应该是独立运作的。应该对每一项工作和责任都有定义
- **人员的资格确认**
人员应该具有承担任务的资格。资格可能是来自教育、工作经验和正式培训。应该验证培训的有效性，以及有相应的文件
- **设施和环境**
实验室应该建立程序以确保设施和环境条件不会给样品处理、仪器、仪器校正与验证，以及分析测试带来不利影响，甚至无效
- **内审**
内审是质量体系的核心内容。其目的是评估现在的工作和文件，审查它们是否符合预定的内部和/或外部标准和/或法规或客户要求

整个流程的法规遵循

一些必要的活动适用于所有工作流程步骤。它们在图 2 的中间部分。

- **分析方法和程序的验证**
GxPs 要求，分析方法和程序必须经过验证以证明其适用性。方法验证过程的终极目标是证明方法可以准确、可靠和重复地完成工作目标。需要验证的典型方法特点是：含量的精密度、重现性、特异性、线性，准确度，耐用性，定量限和检测限。本导论的第四部分涵盖了这些要求的详细内容
- **设备的校正和验证**
影响法规活动的所有设备都应该经过验证和/或校正。设备校正和认证的目的是证明设备满足并可持续满足其用途。需校正或确认的设备包括硬件、软件如 Microsoft™ Excel™ 电子表格，以及完整的计算机系统，包括硬件和软件
- **设备维护**
设备应妥善保养，以确保其具有适当的性能。应该制定规程用于硬件的预防性维护，使得它们在出现可能影响分析数据的问题之前，就能发现并解决问题
- **控制环境条件**
环境条件，如温度和湿度都应该被控制和监测，以确保这些条件不会给设备和材料带来不利的影响。环境条件一般是由设备和材料供应商提供的

用于特定工作流程步骤的法规遵循

图 2 底部显示的所有的 workflows 都有特定的要求。它们包括：

- **采样**
用于后续测试的物质、材料或产品的抽样应该遵循文件程序。检查员要检查采样计划，内容包括采样系统的介绍，何时、以如何方式及由谁来负责采样。应记录样品数据，特别是使用的采样程序、地点、采样人，用于采样的设备和相关环境条件
- **测试项目的处理**
实验室应该确保样品从收到到处理的整个时间里的正确识别和妥善保护。程序中应该有具体的收据、保护、储存、处理、运输、保留和处置内容。程序还应包括应对运输中的变坏、丢失或损坏，处理，标签和储存的规定
- **测试**
测试程序应该确保只采用经过验证的方法，以及经过认证和具有符合的系统适用性的设备。规定待测样品的性能指标和验收标准。用于测试的程序和参数应该存档
- **处理不符合规定的测试结果**
优良生产规范要求无论观测结果是否超出之前规定的验收指标，都要进行调查。这包括在原料药和原料生产中的实验室测试，以及成品测试和 cGMP 法规适用的范围
- **数据验证和结果报告**
测试结果应该由分析人员签字，并由第二个人审查和批准。例如，审查人可以是分析人员的主管或质管组的成员

记录管理

所有与测试相关的记录都要存档。这些记录包括分析证书 (CoA)、仪器和方法参数、期间性能核查报告、支持信息，如色谱图和谱图，以及仪器认证记录。存档期限由各个法规规定，可以是 6 至 15 年。在存档期间，必须保证档案的安全性、完整性和适用性

4. 分析设备、方法和系统的验证

GxPs 要求用于生成、测量和分析数据的评价的分析仪器和方法是适合其用途的。这意味着仪器应是精心设计，经过认证、校准或检查，以确保符合预定指标。这也意味着，应该验证分析方法和程序和检查系统在持续使用中的适应性。

本节介绍关于仪器的性能和维护，包括计算机系统验证、方法验证和系统测试的建议。在详细说明之前，将解释不同的活动之间的相互关系，以及对保证数据的整体质量的贡献。

分析数据质量的组成部分

美国药典通则 <1058> 一开始就解释四个关键组成部分，涉及生成可靠和一致的高质量的分析数据。图 3 显示了这些组成部分层次的活动，质量三角形说明了建立获得高质量数据的基础的分析仪认证。

无论是验证方法或系统，验证系统用于特定用途或分析质控样品的适用性，您都应该首先认证仪器性能。它是所有其它组成部分的基础，是一组证明仪器满足应用要求，以及经过适当的维护 and 校准的证明文件。如果仪器不妥善地进行性能确认，在确定仪器不能满足要求和规定的性能指标之前，即使花几周时间也无法验证分析方法。

在仪器性能认证之后，您就可以在合格的仪器上验证分析方法。这可以证明方法可以满足应用目的。这个验证与任何特定的仪器无关。如果您希望在其它品牌仪器上使用现在的方法，您应该在这台仪器进行方法验证。

然后，您可以把任何特定的仪器和特定的方法合在一起，进行系统适用性的测试。这确保了整个系统在测试的特定条件下，满足分析人员的预期。

测试的最高水平是对质控样品的分析。您分析已知含量的标样或样品，并用正确、认证或已知含量的信息进行结果的比较。获得验证的质控数据是再次使用确认的仪器和验证的方法的前提条件。

USP <233> 要求，在样品分析之前和之后，都要分析作为质控样品的参考标准样品 [30]。只有质控或系统适用性满足要求，才能进行样品的分析。详细内容见美国药典 Chapter <233> 的第六章。

确认样品分析的准确性

确认系统能按照分析人员的期望运行

证明其分析程序满足测试要求

证明仪器对目标应用的适用性

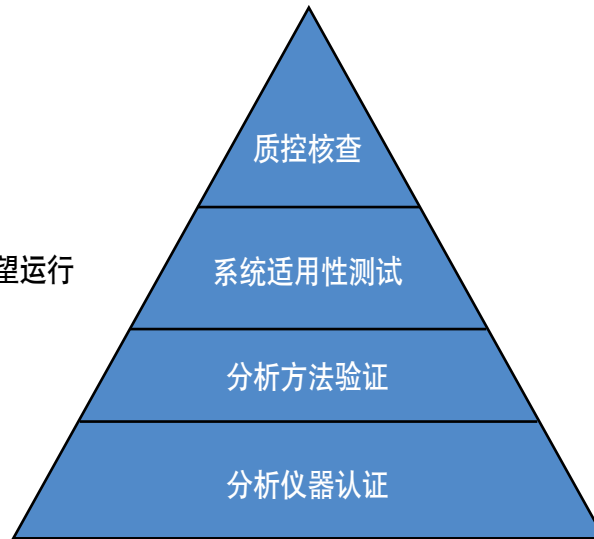


图 3. 分析数据质量的组成部分

设备

分析设备应该根据书面程序进行认证和精心的维护。USP <1058> 介绍了用于分析仪器认证的标准流程 [24]。本节将概述用于仪器认证和维护的美国药典流程。更详细的内容见安捷伦的基础导论：分析仪器认证和系统验证 [11]。

符合美国药典 <1058> 的分析仪器认证

设备认证和计算机系统验证涵盖了产品的整个生命周期。当某人需要特定的产品，它就开始启动，当仪器报废退休了，它就停止。由于时间的长短和复杂性，过程已经分成几个短的阶段，称为生命周期阶段。几个生命周期模型被用于认证和验证。美国药典选择了 4Q 模型，它是在制药实验室被广泛使用的模型。过程见图 4。

整个确认过程分成四个部分：设计验证 (DQ)、安装验证 (IQ)、操作验证 (OQ) 和性能验证 (PQ)。验证报告里描述了特定项目的整个过程，而验证报告里是结果总结。

在设计验证阶段，用户将设备的规格要求写成书面材料。这包括仪器应该具有的所有功能和仪器满足应用目的的性能指标。下一步，用户将自己的指标与厂商的指标进行比较。只要厂商的指标满足或优于用户的要求，设计就是合格的。

对厂商的正式评价包括在设计验证中。这可以是基于与供应商合作的经验基础上，通过邮件审核或通过直接审计的方式进行。

获选的仪器购买后，送到实验室。在安装验证阶段，运单与采购订单比较确保完整性，并按照供应商的安装指南进行安装。还包括实验室条件是否满足供货商产品的环境指标要求，如湿度和室温。如设计验证规定的，根据配置指标配置相应的计算机系统。在安装结束后，记录厂商、型号、序列号和相关信息后，就完成了安装认证。

在安装验证完成后，根据要求指标文件中规定的功能和性能指标进行仪器的测试，操作验证可以由厂商代表或用户进行。在任何情况下，用户代表都必须签署操作验证文件。要定期进行仪器的操作验证，若有明显的变化，如把仪器移至其它地方，都要进行操作验证。

再验证的频率取决于仪器本身，可以参考仪器厂商、实验室经验和使用程度。一般来讲，光谱系统的操作验证频率是 6 至 12 个月。

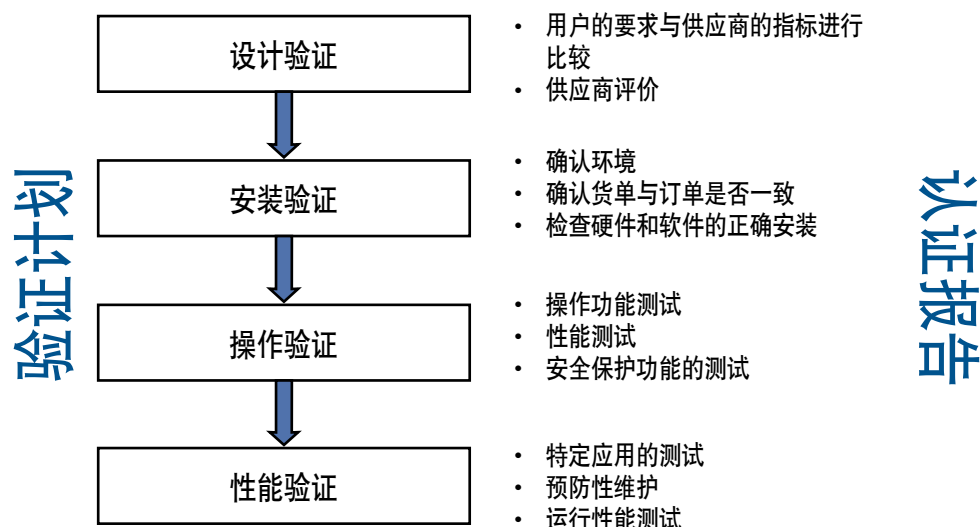


图 4. 按照 4Q 模型的分析仪器认证

而且，在定期的操作验证之间，还应每天进行性能的检查，或仪器一开始使用时，就进行性能的检查。性能验证应该是根据特定应用进行的。根据 USP <1058>，系统适用性测试和质量控制样品可以替代定期的性能验证测试。

软件和计算机系统的验证

GxP 监控环境下的软件和计算机系统需要验证。计算机验证所花的工作量可能比仪器硬件验证高。根据不同系统，软件认证和计算机系统认证的成本可能比软件本身的价格高出 50% 或更多，而且趋势是，成本呈上升趋势。其主要的原因是，软件的功能越来越多，用户或用户代表对系统进行相应的配置。所有可能影响药物或原料药质量的软件功能都需要验证。这并不是说，在用户实验室里，正确的功能也总是要进行测试，但至少，设计验证应该说明所有的功能、测试需求也要在操作验证阶段进行评价。

计算机系统验证的工业标准是来自优良自动化生产质量管理规范的文件部分：GxP 环境下基于风险的计算机系统认证方法，第 5 版 [15]。

与设备硬件一样，计算机系统验证也遵循生命周期的方式。主要的区别是：

- 更加重视供应商的验证。供应商应提供书面证据证明，开发是遵循文件描述的过程，软件作为这个过程的一部分进行验证的（软件验证证书）
- 而对于硬件设备验证，所有的指标都要在用户环境中验证，对软件则没有要求。只要验证一小部分的软件功能就足够了，但要进行完整的系统测试。测试什么和程度取决于风险评估的文件
- 很多时候，用户要定义其计算机系统，如，系统的特定的权限、数据和功能或设置网络配置。用户应该在要求指标文件包括这些配置，以及验证这些功能是否正常运行

有关认证和软件与实验室计算机系统验证的更多信息，请参见参考文献 11。

（预防性）维护

应该妥善维护分析仪器以确保其正常的运行性能。应该建立一个定期的硬件预防性维护程序，以保证在硬件出现问题之前，就能发现和解决问题。这些程序应该包括：

- 何时应该维护
- 维护是如何进行的
- 在维护完成后，应该作什么再验证。如，在仪器维护后，总要进行性能验证
- 如何将维护工作记录成文

已计划的维修活动应遵循书面的仪器维护计划。一些厂商提供能在预定的时间间隔里进行预防性维护保养的服务合同。包括一套诊断程序和关键零部件的更换的内容，以确保系统可以持续可靠地运行。

除计划开展的维修活动之外的非计划维护活动，应由仪器使用者或负责该仪器的人员正式提出。相关人员应输入请求维护的原因，以及优先程度。所有维修活动应记录在仪器的日志里。

处置有缺陷和不合格的仪器

对于有缺陷和不合格的仪器，应该把它们从实验室区域移走，或不方便的情况下，如大型或永久安装固定的仪器系统，应该贴上缺陷或不合格标签。对于最常见的问题，应该有相应的程序。这个程序也应包括在维护维修后，是否以及怎样再验证的信息。

设备记录和其它文件

书面记录应包括所有的检查、维修、测试、校准/或认证/验证操作。包含操作日期的这些记录应说明维护操作是如何遵循标准操作程序的。

书面记录应该记录仪器由于失灵或故障而进行的维修。这应记录故障的性质、故障是何时和如何被发现的，以及针对故障采取的补救措施。补救措施应包括故障在被发现之前，对生成的数据存在潜在影响的评估。所有这些记录都被输入至仪器日志中。仪器日志应与在该仪器上生成的数据具有同样的保存期限。

分析方法和程序的验证

GxPs 要求分析方法必须经过验证，以证明仪器与预期用途相适应。用于检查药物质量，效果和安全的分析方法都应经过验证。方法验证过程的最终目标是证明方法能准确、可靠和重复地满足预期用途。

监管机构和其它官方机构已经制定了用于分析方法验证的若干文件。例如，美国药典的“药典方法验证”的通则 [26]。分析方法验证的全球性参考文件是 ICH Q2 (R1) 指南“分析程序验证” [22]。

ICH 目标应用的验证参数

ICH Q2 和美国药典通则 <1225> 对于每个预期用途指定了验证参数。它们已经作为美国药典通则 <233> 中描述的药典程序的替代方法的测试的依据。

表 1 列举了 ICH Q2 的验证参数。表中没有包括耐用性，但是 ICH 专家希望在方法开发过程中进行测试。美国食品药品监督管理局 (FDA) 和其它机构希望耐用性测试应包含在方法验证包里。

表 1. ICH 认证特征 (方法学和术语的详细内容, 见参考文献 12)

分析任务	杂质测试			
	鉴别	定量分析	限量测试	检验
准确度	否	是	否	是
精密度				
重复性	否	是	否	是
中间精密度	否	是	否	是
重现性	否	是	否	否
特定性	是	是	是	是
检测限	否	否	是	否
定量限	否	是	否	否
线性	否	是	否	是
范围	否	是	否	是

ICH 方法的概念是，它并不总是需要认证表 1 所列的所有参数。例如，如果方法是用于痕量组分的定量分析，就没必要进行方法定量限或仪器整个动态范围的线性测试和认证。验证程度还取决于药物生命周期的阶段。虽然，机构希望在 III 期临床和药物生产控制中实施全验证，但是最耗时的测试，如中间精密度、重现性和耐用性，很可能没必要在临床前和 I 期临床研究中实施。然而，需要一个声明，解释为什么生产商认为方法与预期用途相适应。

方法验证的策略

实验室应定期使用类似未知组分的样品或标样来验证具体方法的有效性。准备和实施测试应该遵循验证协议，最好是以一步一步的指令格式编写的协议。

正如设备验证和计算机系统验证一样，方法验证不是一次性的事件。它始于有人想在实验室运行新方法时，止于方法不再使用时。由于时间的长度和复杂性，整个过程分成几个阶段。过程如图 5 所示。

首先，我们制定包括负责人、责任和交付的验证计划。下一步是该方法的范围界定。这包括某浓度范围的目标化合物、样品基质、应该使用的具体设备和用于样品分析的方法的地点。一旦知道要分析什么，就可以制定性能特点，性能测试和验收标准。然后制定包含实验室条件和测试协议规定的分析条件。用验收标准检验测试结果。最后，开发程序进行方法的日常运行，以及在分析时，进行系统性能的验证。测试可能包括系统适用性测试和/或质控样品的分析。所有的实验条件和验证结果总结在验证报告里。

法规方法的验证

法规监管环境下的实验室应采用官方方法，如公认的机构开发和验证的方法，如美国测试和材料协会 (ASTM)，或者美国药典。例如，美国食品药品监督管理局及化妆品法要求美国食品药品监督管理局 (FDA) 监管行业使用药典方法或证明等效。这些方

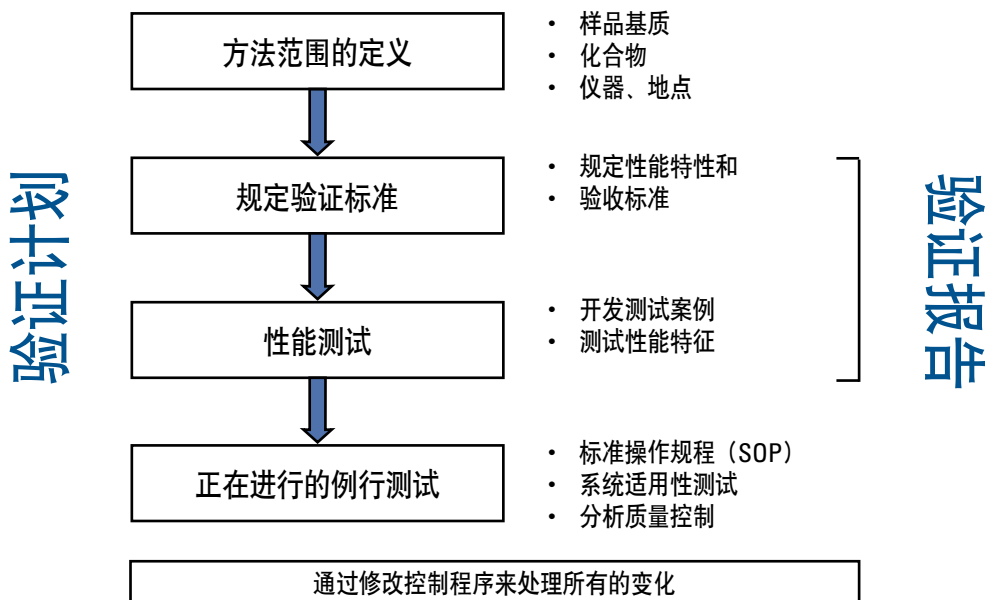


图 5. 方法认证过程

法是经过验证的，所以很多分析人员认为方法可以直接使用而不必在实验室里进行进一步的验证、确认和测试。这是一个错误的假设。美国 FDA GMP 在 21 CFR 211.194 a 中指出：如果使用的方法是现在的美国药典版本，或者其它认可的参考标准，或者批准的新药申请而且参考方法没有经过修改，则提供指明方法和参考的声明就足够了。所有测试方法的适用性应该在真实条件下进行验证。

这清楚地表明，官方方法只要没有修改，就无需进行验证，但是实验室应该证明，它能成功地运行分析方法。这也是在美国药典通则 <233> 中建议的。本章建议，即使是新的药典仪器方法也应该通过替代程序中的验证实验证明方法的适用性。对于日常运行的仪器，系统适用性测试就足够了。

测试什么和多少内容应该取决于对于已经记录并论证的风险评估。USP 通则 <1226> 介绍了相关的指标：

- 用户的培训和经验水平
- 相关的设备或仪器
- 进行测试的材料（例如杂质概况）
- 药物的合成路线

- 基质对杂质回收率的影响
- 适当的检测器信号响应

像实验室里建立方法的验证一样，药典方法的评估和验证也应该遵循文件流程，如验证计划或标准操作规程。结果应当记录在验证协议中。

分析方法的转移

当已验证的分析方法在实验室之间转移时，收到方法的实验室应该证明它能成功运行方法。分析方法转移的典型情况是从研发实验室转移到质控实验室，当产品线从原公司转移到合同实验室，或者当产品是从其它公司购买来的时从 X 公司转移到 Y 公司。美国药典已经发布了通则 <1224> “分析程序的转移” [25]。

主要建议：

- 进行方法转移的实验室确定一个或多个已知的样品、方法参数和验收标准，例如，方法的准确性。样品应包括完整的原始方法验证时包括的参数
- 在接受方法的实验室里分析样品，检查结果是否满足验收指标

- 根据分析的重要性的和方法的复杂性，应该重复一两个验证测试。例如，杂质定量分析的定量限

方法转移应该遵循流程，如，方法转移计划或标准操作规程。

5. 根据 FDA Part 11 和 EU Annex 11 法规管理电子记录

用于杂质分析的光谱仪器配置了带有各种应用程序的计算机，它控制仪器参数、采集信号和谱图数据，将原始数字数据转换至测试结果（如浓度），以及打印结果，在要求的保留期限内储存和存档所有的仪器和方法参数、原始数据和处理数据。美国和欧盟的法规要求进行计算机、电子记录和电子签名的管理。美国的法规是由行业指导性文件“范围和应用” [17] 支持的 FDA 21 CFR Part 11 [32]。在欧盟，其相等的法规是欧盟优良生产规范（GMPs）的第四章 [33]，其中涉及的文件，和 Annex 11 的欧盟污染 [34] 和计算机系统管理的要求。21 CFR 第 11 部分适用于所有在 FDA 监管的环境中使用的计算机系统；引述欧盟文件适用于欧洲优良生产规范要求的监管环境和系统。

所有这些文件的目的是确保电子记录和签名与记录纸和手写签名一样值得信赖和可靠，与手动系统比较，计算机系统不会对产品质量和质量保证产生不利的影响。

由于这个主题的重要性，本基础导论的一个章节是专门介绍计算机系统和电子记录管理的。它涵盖了用于药物开发和质控实验室计算机系统的相关参考文件中规定的所有重要的要求。

法规监管的要求和建议

关于要求和建议，我们可以参考美国 FDA Part 11 [32]，指导文件“范围和应用” [17] 和欧盟 GMP Annex 11 [34]。

风险评估

根据 EU Annex 11，风险管理用于计算机系统的整个生命周期，考虑病人的安全、数据的完整性和产品质量。作为风险管理系统的一部分，验证和数据完整性程度的决定应该是基于计算机系统的合理和记录成文的风险评估。

建议如下：

- 确定计算机系统的风险等级：高、中、低。标准是：影响系统数据的完整性、（药用）产品质量和病人安全
- 根据定义的类别，采用适当类型和程度的法规遵循，例如，验证的程度和再验证的频率，是否应该执行电子审计跟踪或备份频率

系统验证

用于产生、维护和存档电子记录的计算机系统应该进行验证，以保证记录的准确性和可靠性。

建议如下：

- 按照本导论第四章中描述的用于验证的生命周期模型
- 采用基于风险的验证概念
- 检查 Annex 11 Chapter 4 [33] 中应该在审核中生成和存在的文件类型

数据准确性

与其他系统进行电子数据交换的系统应包括适当的用于正确、安全地进入数据和数据处理的内置检查功能，使风险降至最低。对于手动输入关键数据，应该进行数据准确性的检查。这个检查可以由第二个操作者或经过验证的电子工具完成。

建议如下：

- 验证计算机之间数据传输的准确度。这可以在操作或性能验证期间进行
- 如果可以的话，使用软件功能检查手动输入数据的合理性和准确性
- 如果没有软件功能来验证手动输入数据，可以通过第二个人验证高风险数据的准确度

授权用户和权限检查的有限访问

应该建立程序和技术控制手段对系统登录和数据传输到授权个人进行限制管理。防止非法进入系统的适当办法包括使用钥匙、通行证、个人密码、生物识别码，以及限制访问的计算机设备和数据存储领域。

系统应进行权限检查以确保只有经过授权的人可以使用这个系统、电子签署记录、修改记录或执行操作。系统应当设计成能记录具有唯一性身份的登录者，包括日期和时间的数据的更改、确认或删除。

建议如下：

- 制定密码生成、分配、使用和维护的规定
- 制定用于限制个人访问系统的程序，例如通过用户名和密码。每个员工都应该有他/她唯一的用户标识和应选择他/她自己唯一的密码
- 制定用于限制个人访问系统操作功能和数据的程序
- 确保安装的软件可以行使您公司的密码规定和程序
- 对系统进行相应的配置以执行您公司的密码规定
- 对系统进行相应的配置以执行用于限制访问系统和数据的公司程序
- 验证用于限制访问系统和数据的密码管理规定和程序是否正确运行

原始数据和记录的副本

许多文件都是以混合形式存在的，即某些文件是电子形式的，而其它的则是纸质形式的。法规监管环境下的用户应该规定哪些数据是属于原始数据。至少有关质控的所有数据应该是原始数据。当建立记录副本时，要确保副本是准确和完整的，或提供原始记录的内容和含义。

建议如下：

- 对于每个应用，规定什么是原始数据。例如，原始电子记录、中间处理数据或计算机打印文本

- 对于光谱系统，原始电子记录属于原始数据
- 保存电子记录，以备法规机构在打印结果后进行审查和建立副本
- 如果对机构进行审查和电子记录复制的能力方面有疑问，请直接与机构联系

记录的保护

应该保护所有的记录，以确保在记录所要求的保留期限内的准确性并可随时检索。应该用物理手段和电子手段保护数据，以防止丢失和损坏。应该检查存储数据的可访问性、可阅读性和准确性。记录保留期间，应该保证可浏览数据。应该定期对所有的相关数据进行备份。在验证和定期监测过程，应检查备份数据和恢复数据的完整性和准确性。

建议如下：

- 在电子记录保留期间，应遵守公司的程序
- 根据相关的法规规定要求，检查您的记录的保留期限
- 当系统升级或被新系统替代时，要转移电子记录。请供应商验证文件转换程序
- 在文件存档期间，应定期检查电子记录的可用性和完整性
- 对电子记录进行备份
- 验证备份和恢复程序

计算机生成时间的戳记审计追踪

应使用安全的、计算机生成的时间戳记审计追踪来独立地记录操作者登陆和操作项目的日期和时间，包括创建、修改或删除关键的电子记录。记录修改不应该覆盖以前的记录信息，即修改的记录应作为新记录进行保存。审计追踪文件的保存期至少与主文件要求的保存期一样，而且应该可以被机构审查和复制。审计追踪文件应进行定期复查，对于支持批签发记录，应该尽可能地打印文件，以显示从原始记录来的所有改变信息。

建议如下：

- 包括在计算机光谱系统的用户要求指标中的电子审计追踪
- 审计追踪的特定要求包括：什么被修改了、修改人是谁、什么时间修改的（日期和时间），还可以作为选择要求包括修改的原因
- 确保审计跟踪文件是可读的格式
- 确保更新的记录没有替换和覆盖原始记录
- 定期审查电子审计追踪文件
- 验证电子审计跟踪的正确运行
- 审计追踪文件的保存期至少与主文件要求的保存期一样
- 使用的软件必须可以识别打印文件上的更改记录。如果没有这样的软件，采用手动的程序

电子签名

Part 11 和 Annex 11 允许使用电子签名。Part 11 对电子签名有更多的要求。有关电子签名的信息包括：

- 签名人印刷体的名字
- 电子签名的日期和时间
- 电子签名的意义。例如，审查、批准、责任和所有权
- 手写和电子签名应该永远与它们相应的电子记录是链接的

建议如下：

- 确定并书面记录是否执行电子签名或手写签名
- 如果使用电子签名，包括在系统用户要求的指标文件中的软件功能
- 如果使用电子签名，致信给食品药品监督管理局（FDA），说明您的公司将使用电子签名（仅仅适用于美国的食品药品监督管理局监管的行业）
- 培训人员，使其了解电子签名的含义和问责制度
- 配置用于电子签名的系统
- 验证电子签名的正确功能

定期评估

电脑系统应定期评估，以确认他们仍然处于有效状态。

建议如下：

- 开发和执行相应的程序以定期审查计算机系统
- 设定一年两次的审查频率
- 包括在评价目前的范围或功能，偏差记录、事件、问题、升级的历史、可靠性、安全性和验证报告，尤其是定期绩效考核资格的结果

对仪器和供应商的支持的要求

计算机系统的用户需要从他们的供应商获得帮助以遵守有关的法规和指南。与仪器和支持相关的要求。

仪器

供应商应提供具有所有基本功能的仪器和系统，使得用户符合法规要求。用户企业不应该仅依靠供应商的一个关于软件或系统符合 Part 11 或 FDA 法规或认证的空白声明。用户应该定义和创建书面要求，并确认该软件符合法规要求。然而，选择和安装系统并不意味着系统符合法规要求。用户需要定义应该执行、遵循和强制执行的程序。例如，操作者应参加正式的培训，而且进行系统配置以符合要求，如，设定和验证系统、数据和任务的访问控制。

系统要求包括：

- 系统访问只限于遵守公司密码政策的授权人员，例如密码有效期、指定不成功登陆的次数后自动注销登陆
- 监管部门根据用户公司的程序进行检查以确保访问数据、应用和任务的权限
- 根据用户公司的规定，对原始数据进行记录和存档
- 仪器和方法参数的记录和归档
- 根据用户公司备份政策和程序，对数据进行安全备份
- 将授权用户与这个用户创建的记录进行关联
- 含有修改内容、修改人和修改时间（日期和时间标签）信息的电子审计追踪

- 可选的记录修改原因的审计跟踪条目
- 用户不能更改审计跟踪日志表
- 审计跟踪功能记录原始数据、处理数据和仪器参数的变化
- 修改记录应该在打印文件上标识（如，修订号）
- 审计跟踪表应是可审查的
- 审计跟踪表应是可打印的
- 应该保护数据，以防偶然和意外被删除
- 文件在存档和传输时的准确度验证，如通过校验的程序
- 使用电子签名时，至少在签名时，软件应该显示用户的印刷体名字，并且应该要求用户重新输入用户名和密码。另外，用于还应该输入签名的原因，例如审查或批准
- 手写和电子签名应该与他们的用途记录相关联

支持

对供应商提供支持的要求包括：

- 供应商应提供书面证据，以证明该系统已在按照适当的质量管理体系开发。这包括证明文件，如软件开发、交付和有资质的人员提供支持。这也意味着，供应商有一个有效的修订和版本控制系统的软件和文件
- 如果用户要求，供应商应同意用户审核
- 如果用户要求，供应商应该签署有关系统交付和支持的正式协议。协议应该包括明确的责任声明
- 供应商应该提供最新的系统文件
- 供应商应该在出现可能影响数据准确性和完整性的软件缺陷和错误的情况下提醒用户
- 供应商应该通过电话或现场支持的方式支持系统
- 供应商为用户提供软件或系统功能列表
- 供应商应提供系统操作培训
- 供应商应提供安装服务
- 供应商应提供安装验证，操作验证和再验证的服务

6. 根据美国药典通则 <232> / <233> / <2232> 分析元素杂质

测定药物材料中的元素杂质（以前被称为重金属）具有很久的历史。本章节详细介绍了利用现代仪器建立的新的分析方法如何取代传统方法。它还介绍了如何选择元素和规定限量，最后将讨论两个药典程序，验证程序和替代程序的验证。

新美国药典通则关于元素杂质分析的发展

美国药典通则 <231> 的历史和限制

环保材料和食品，以及医药产品中元素杂质的监管已经有几十年的历史了。虽然有国家医疗机构规定和控制药物的法规，而分析方法是药典负责开发。例如，美国、欧洲和日本的药典制定了药品和原料药中元素分析的通则。在目前的药典方法中已规定的元素有砷 (As)，镉 (Cd)，铜 (Cu)，锡 (Sn)，锑 (Sb)，铅 (Pb)，铋 (Bi)，银 (Ag)，汞 (Hg) 和钼 (Mo)。所有药典中的方法都是类似的，都是利用弱酸介质对金属硫化物进行沉淀。在测试溶液中形成的黑色或褐色的沉淀的色度与 10 ppm 的硫化铅参考标准物质进行比较。在美国，方法发表在美国药典通则 <231> 中：重金属分析 [28]。该方法已经使用了 100 多年。尽管方法有明显的局限性，但仍然使用了这么久，这是因为它有一些实际应用的优势，如它不需要昂贵的仪器和训练有素的技术人员。

由于比色法的重大缺点，所以过去二十年来，对新方法的要求越来越迫切。例如，该方法：

- 通过主观目视检查法，将样品与铅标准溶液进行比较
- 只能用于形成有颜色的金属硫化物的元素
- 没有选择性，这意味着它无法区分高毒性和低毒性元素
- 需要很大的样品量才能检测痕量元素（例如，最少 2 克样品满足 10 ppm 的检测限要求）
- 耗时，耗力
- 对于固体样品，需要在马弗炉 600 °C 下进行灰化，这将导致挥发性元素的损失
- 挥发性元素的损失与元素有关，这意味着该程序无法得到定量结果。例如，固体样品中的汞根本没有回收

开发更好的分析方法

早在 1995 年，布雷克 [1] 指出，金属损失是目前测试程序的一个严重问题：“由于在燃烧时导致的金属损失，美国、日本和欧洲药典通用测试程序进行测试结果验证是值得怀疑的”。

作者王与他的同事在一篇发表于 2000 年的文章中 [2] 使这一点更加清楚：“尽管这些方法在制药行业仍然被广泛接受和使用，但是这些方法是基于有颜色的金属硫化物的强度，没有特异性、灵敏度不高，耗时、耗力，而且经常不能满足期望，回收率低或根本没有回收。”在同一篇文章中，作者介绍了基于电感耦合等离子体质谱的方法就没有这些局限性。

Lewen 和同事 [3] 开发并优化了美国药典通则 <231> 中列出的 10 种元素和钡、铂、硒和钨的 ICP-MS 方法。他们发现，ICP-MS 分析和相关的密闭容器酸消解样品制备方法“提供了良好的灵敏度、使用最少的样品量、受到最低的元素干扰，以及提供一种快速、自动进行多元素分析的技术”。他们还指出，此方法能使分析人员使用稀的样品就可以获得亚 ppb 的检测限，因此就减少了样品量，降低了样品基质对分析结果的影响。他们使用的样品浓度比药典方法低 40 倍（0.025 克比 1 克）和使用只含有 1 毫克/毫升的样品溶液。

Lewen 和同事对 ICP-MS 和比色法的回收率进行了比较。他们发现，比色法硒，锡，锑，钨和汞的回收率小于 10%，汞由于具有较高的挥发性，因此根本没有回收率。只有银元素的回收率高于 50%。

发表的文献也指出，回收率不仅取决于元素的类型，还取决于样品基质，因为它很耗时耗力，而且依赖于操作者的经验。这一切使得可靠的定量分析变为不可能。

新通则的规划

前面提到的实验发表不久，美国药典就成立了特设咨询小组来负责重金属和重金属杂质，成员由美国药典、美国食品药品监督管理局和行业的专家组成。团队的任务是提出一个有关方法的通则：

- 是否基于现代仪器的方法（如电感耦合等离子体或原子吸收光谱法）
- 方法是否具有足够的灵敏度、选择性、可靠性和经济实惠
- 是否可以处理实际毒性限制，以及生成各个金属含量的测试报告，而不是金属总量
- 是否适用于药物、原料药、食品和膳食补充剂
- 是否经济实惠

此外，还要求团队与其他药典和 ICH 合作，目的是要使方法能够具有被全球普遍接受的潜力。

金属杂质咨询小组作出如下建议：

- 必须检测药物和原料药中的有害元素，砷、铅和汞
- 除了 EMA 金属催化剂指南列出的作为催化剂的 11 种元素之外，还有铁和锌
- 根据挥发性有机溶剂的 USP <467> 模型，建立限量计算的多个选项
- 首先制定三个新通则，并更新美国药典公告与实施策略
- 生效日期与 EMA 金属催化剂指南同步

经过几次初步的发表刊物和会议，关于新通则的第一个建议发表于药典论坛（PF）2010 年 1 月版，并在 2011 年 5 月进行了细微变化的更新，并再次在 2012 年 6 月公布的第二次补充文件中进行了进一步修改，预计将成为最终的方法。美国药典还集中了来自产业界和学术界专家的建议和意见。在修订过程中，美国药典还努力考虑美国食品药品监督管理局方面，以避免在美国食品药品监督管理局与行业之间的解释时出现任何分歧。

根据小组的建议，美国药典计划准备从 <231> 到药典公告中新通则的过渡文件。目前有大约 1000 个根据美国药典通则 <231> 要求的元素杂质分析的专著。在建议实施日期以后，这些专著要按照新通则实施。不是取代每一个专著，美国药典（USP）将在通则公告中发布声明，除非专著中指定的元素和 <232> 中限量值是适用的，否则从 2012 年 4 月开始，<231> 方法将被 <233> 取代。

通则概述

小组建议开始用三个通则，<232>，<233> 和 <2232> 代替 <231>，过几年后还可能有第四个。这些通则已经得到现有的通则支持，关于等离子体光谱化学的 <730>，分析仪器验证的 <1058>，和分析方法验证的 <1225> 和 <1226>（见图 6）。

通则 <232> 说明了药物产品中元素杂质及其限量。

通则 <233> 说明了两个药典测试程序和它们验证的用户实验室的仪器、样品制备和分析方法。它还说明了替代方法和测试，以及系统适用性测试的验收标准的验证程序。

建议的通则 <2232> 是用于膳食补充剂中的元素分析。本通则在 2012 年 5 月做过更新 [31]。

元素的选择和限量

USP <232> 中规定的元素和限量是根据毒性而不是方法。USP <232> 要求的十个元素中只包括六个元素：镉、铅、砷、汞、铜和钼。除了六个铂族元素（PEGs），通常是用作催化剂（钌、铑、钯、铱、铂），还有另外三个元素（铬、镍和钒）也添加到列表中。DeStefano 和 Zaidi [6] 详细描述了元素杂质限量的依据和毒性。选择中，美国药典参考了美国环境保护署（EPA）公布的参考剂量（RfDs）[35] 以及催化剂或金属试剂残留限量的 EMA 指南 [19]。

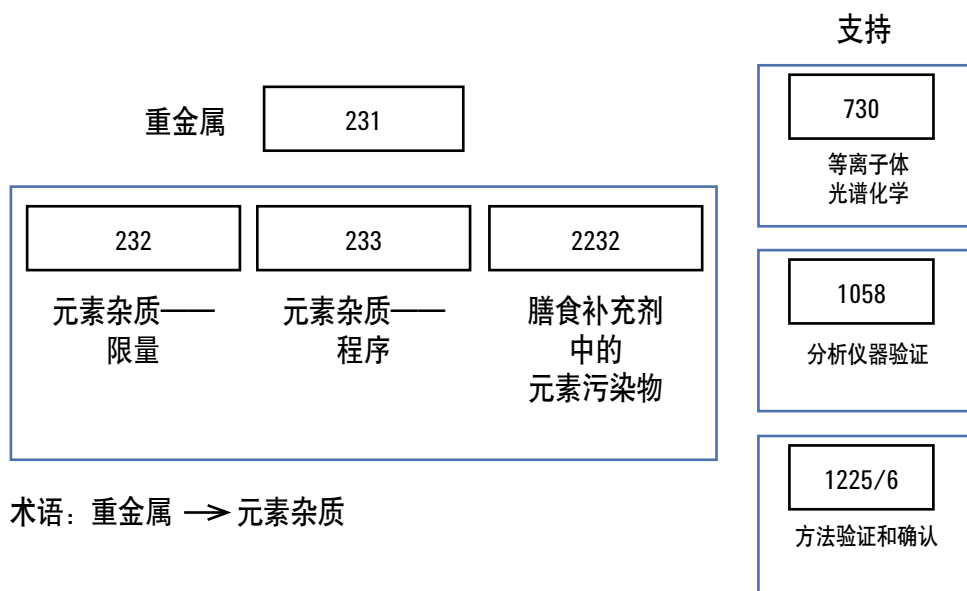


图 6. 用于元素杂质分析的美国药典通则的概述

主要选择标准是：

- 关于人类金属暴露的毒性
- 测试项目中存在金属的可能性
- 金属暴露的其它来源
- 来自不同金属的加和毒性
- 毒性风险增加的特殊人群

类似于美国药典通则 <467> 和 ICH Q3C (R4) 关于残留金属的限量要求，PDE（允许每日暴露量）被用于 <232> 中规定的浓度限量的计算。这也与有关金属催化剂残留的 EMA 指南一致。PDE 的定义是“在不可能产生任何不利健康影响的基础上的药理学最大可接受暴露量”。

PDE 限量与 ICH Q3D 专家小组 [20] 的初步审议一致。如果 ICH 的建议是关于最终 Q3D 指南中元素选择和限量，美国药典将通过 USP 修订过程来管理通则的更新。

表 2 列出了 2010 年 6 月以后实施的 USP <232> [29] 规定的 15 个元素的允许的每日暴露（PDE）限量。第一版中 I 组和 II 组元素列表在 2011 年 5 月以后合并成一个表，但更多的有害元素，砷、镉、汞、铅，有时也被称为“四大有害元素”的限量比其它元素更低，而必须在所有的样品中都要检测。2012 年 6 月版中，砷的 PDE 的限制再次被降低（1.5 微克/天），这反映了对这个有毒和普遍存在的 4 个元素的关注程度。其它

11 种元素测定的要求（锰在 2011 年 5 月版中存在，但是在最新版草案中又被删除）应该是基于适当和成文的风险评估。标准是，元素杂质可能来自制造过程中（例如，如果该元素是作为一个过程的催化剂）和药物成分。

药物通过肠外吸收，总体积超过 100 毫升/天，设置一个溶液中任何一个组成都可能产生的绝对浓度的限量。这被称为大容量注射限制（LVP）。限量列于表 2。

元素杂质的毒性与病人对元素的暴露程度或者药品剂型有关。USP <232> 根据给药途径或者换句话说药物如何进入体内来制定了三个不同的限量。对于药物的肠外吸收，暴露因子是不同的，如注射和植入物，和吸入暴露，如气雾剂、吸入器和气体。所有其它的暴露途径，如固体和液体口服，粘膜和外用的，具有相同的（更高）限制。这是因为注射/吸入方式的体内吸收高于固体或液体服用。这意味着肠外和吸入的限量比口服低。

美国药典通则 <233> 并不要求测定每个元素的氧化态、有机复合物和其它化学形态，即元素形态。然而，因为毒性可能取决于元素的形态，所以元素的化学形态的认识可能很重要。由于砷、汞的无机和有机形态的毒性显著不同，所以这两个元素特别受到重视。<232> 中规定的砷的限量是基于无机砷，即毒性最高的形态。如果总砷的含量低于法规限量，可以用常规的分析方法测定总砷，即使材料中的全部的砷都是无机砷（三价砷和五价砷），材料中无机砷的含量也必须小于限量。如果总砷超过 PDE，则需要对不同的形态进行定量分析。

同样，汞的限量是基于无机汞的氧化态（二价）形式。甲基汞的毒性更高，但对于医药产品很少成为问题。直到最近，汞（硫柳汞，Thimerosal 或 Thiomersal）作为抗菌剂被加入到疫苗中。只有材料可能含有甲基汞时，才进行甲基汞的测试，例如材料来自鱼，或如果总汞超过 PDE 限量。Lorentz 和同事 [4] 介绍了 HPLC-ICP-MS 方法进行原料药中各个金属和金属有机化合物的形态和定量分析的方法。

仪器

美国药典金属杂质小组一直关注着能满足前面讨论的所有要求的各种仪器。仪器包括：

- 火焰原子吸收光谱法（FAAS）
- 石墨炉原子吸收光谱法（GFAAS）
- 电感耦合等离子体原子发射光谱（ICP-OES）
- 电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）
- 原子荧光光谱法
- X 射线荧光光谱法

仪器在功能和性能上有很大区别，以及成本，包括初始投资成本和后续使用成本。一般较昂贵的仪器功能和性能也更好。

理想的特点和性能标准包括：

- 能分析元素的数量多
- 干扰或重叠/其它元素的贡献（特异性）更低
- 多元素分析所需的时间更短

- 自动化程度高
- 宽的线性和动态范围
- 耐不同基质的能力更高
- 更少的样品量就符合 USP <232> 的要求
- 容易与其他技术联用，例如与高效液相色谱联用测量元素形态

只有 ICP-OES 和 ICP-MS 可以在一次多元素测量中检测所有指定的元素的仪器。很明显，ICP-MS 在灵敏度和线性方面具有最好的性能。

在比较不同仪器的优点和缺点之后，美国药典小组提出了 ICP-OES 和 ICP-MS 作为首选工具。USP<233> 使用两类仪器用于药典程序，以及用密闭容器微波消解法进行样品制备。只要替代方法完全符合 <232> 中所述的标准，它们可以用于限量程序和定量程序。这要通过 <233> 中所描述的广泛实验来验证。

只要有预算，就建议使用药典方法的其中一个：ICP-MS 或 ICP-OES。除了优越的特点和相当或更好的性能，大家都不应该忽略它们都是药典方法这个事实。当样品送给 FDA 进行随机确认分析时，FDA 将使用药典程序，以期望结果与药物厂商的结果保持一致。在任何偏差的情况下，药典程序通常被认为是正确的。

证明具有快速的多元素分析仪器的其它论据是：

- 一个趋势表明，原料药和辅料的采购来自世界不同的地方，供应商提供的信息很少，有时候甚至没有信息。如果存在的杂质是未知的，则需要更全面地扫描鉴定，这是因为 USP <233> 要求，在其他元素的存在和基质成分测定时，供应商必须提供所规定的待测组分的“明确”信息。为了使生产者满足法规要求，他们应该具备能鉴定给定样品中所有元素的手段，如 ICP-MS 的全扫描分析，它可以降低了来自未知干扰物的可能性
- 不同的供应商可能采用不同的生产过程，因此产生不同的，未知的杂质

ICP-OES 和 ICP-MS 之间最大的差别是，ICP-MS 具有更宽的线性范围、更低的检测限和定量限。

使用 USP <232> 中推荐的参考仪器技术（ICP-OES 或 ICP-MS）直接测定 USP <233> 中规定的元素的 PDE 限量，许多新药的原料药的合成工艺日益复杂，成本越来越高，而且每次合成的数量很少。这些毫克量的样品的高倍数稀释使得样品的浓度很低，这就要求仪器具有更低的检测限。ICP-MS 具有极低的检测限和极低的线性范围（安捷伦的 7700 系列 ICP-MS 的线性范围为 9 个数量级）。低检测限对于一些有害微量元素的检测是非常重要的，因为根据 USP <232> 的要求，这些元素必须控制在最低的浓度水平，主要是镉、汞和铅。

还应该考虑到，USP <232> 中规定的PDE限量（见表 2）必须随着药品的类型和服用方式进行调整。例如，通过肠外给药方式的药物的 PDE 值要比口服方式低 10 倍，而大容量注射（LVP）的药物（日注射量大于 100 毫升），其 PDE 值必须比口服方式低 100 倍。

此外，还应该考虑，PDE 值必须根据样品制备时的稀释因子进行校正。例如，对于口服方式的固体药物和辅料，镉的限量是 2.5 µg/g (ppm)。在样品制备中，稀释倍数是 250（如 0.2 克消解，并稀释到 50 毫升）将使得样品消解物中镉的 PDE 值应该是 10 ng/mL (ppb)。必须测定目标限量值一半浓度时的准确回收率，建议检测限应该比这个值（0.5ng/mL）低 10 倍，ICP-MS 很容易测定分析这些样品，如图 6 所示。对于注射或吸入给药，药物或辅料的成分限量比这些值至少低 10 倍，因此消解样品中的检测限应该小于 0.05 毫微克/毫升，ICP-MS 仍然很容易检测。

样品制备

使用 USP <232>/<233> 可以分析很多类型的样品，所以提供一个适合所有样品前处理的方法是不现实的。一些药物可以直接分析（非溶剂化），而某些样品需要简单的稀释或溶解于水相溶液（如水或稀酸溶液）或者适合的有机溶剂（如丁氧基乙醇：水，DMSO 或 DGME）。利用简单的稀释或水溶液或有机溶剂中溶解方式的制备方法必须考虑化学稳定性，在某些有机溶剂中，样品中的某些组分的溶解度是变的。对于很多的原料药，有机溶剂的稀释是首选的办法，在这种情况下，可能需要考虑一些是组分稳定的办法，以避免由于挥发性组分的变化导致的回收率的变化。

许多原料、辅料、中间体、原料药和最终产品将是不溶于任何常用的水或有机溶剂，所以需要酸消化。尽管个别实验室开发和验证酸组成和消解方法以获得可接受的回收率和样品稳定性，但是 USP <233> 指定使用“强酸”用于此类难溶样品的消解。尽管如此，还是有一些适用于大多数需要消解样品的通用步骤。

USP <232> 中的元素列表，包括汞和铂族元素。在氧化介质中，如硝酸或硝酸/过氧化物中，低浓度的汞和铂族元素不稳定，只有当消解溶液有盐酸时，它才能保持稳定并进行测定。而 USP <233> 没有具体规定，用 ICP-MS 分析样品时，必须包括相应的稳定剂，当分析汞时，需要另外的络合剂（如盐酸），以保证化学稳定性（根据修订的药典通则，所有的样品都必须检测汞元素）。

医药产品可能是一个复杂的混合物，原料药，加填料，粘合剂，色素和糖衣。这些糖衣可能是有机聚合物，它用于配方中用于抵抗胃酸的影响，从而控制药物在小肠内的释放点。由于样品类型范围宽和各种复杂的基质，微波消解可能是保证药品完成消解的最常用方法，密闭容器微波消解是 USP <233> 中用于固体样品制备的首选消解技术。密闭消解还避免了挥发性元素，如汞的损失，而这是 USP <231> 的问题，前面已经作过论述。

密闭微波消解方法的举例见表 4。

表 4. 用于药物的密闭微波消解的举例

消解条件	
微波炉的品牌和型号	Milestone Ethos
转子类型	高压, 石英插入
转子容量	10 个体积约为 20 mL 的样品管
消解	
样品量	0.2 g
硝酸	1 mL
盐酸	0.25 mL
双氧水	0.5 mL
去离子水	3.5 mL
消解炉程序	
预消解 (室温)	15 min
程序 (至 1200 W, 150 °C)	15 min
恒定 (至 1200 W, 150 °C)	10 min
冷却	15 min
最终溶液中	
加去离子水	至 50 mL
总稀释倍数	250

药典 (仪器) 程序

通则 <233> 说明了定量分析的两个参考程序, 适合于元素杂质的同时定量分析。程序 1 是利用电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-MS), 程序 2 是利用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS)。

本节包括运行此方法的操作步骤。在样品制备和分析中, 应该遵循本导论第三节中概述的 GxP 和质量保证的一般原则。特别是:

- 仪器在首次用于程序 1 或程序 2 之前, 应该进行验证以证明仪器符合应用的要求指标。建议应遵循 USP <1058> 规定的和本导论第四章所描述的程序。这也包括计算机系统的验证
- 在仪器首次用于某个特定样品, 通过符合通则 <233> 定义的两个程序的任意一个程序来验证仪器程序是否合适

- 确保用于配制标准溶液的材料, 如试剂, 具有足够高的质量。例如, 按照 USP 通则 <730>, 溶液中应不含有目标的有害元素

- 对于标准溶液, 确保并有符合质量要求的书面 (标准) 参考资料

- 确保操作者接受过仪器和程序的培训, 并有书面培训记录

- 根据仪器厂商的建议, 设置仪器参数

两个程序中相同的建议步骤:

1. 配制标准溶液 1: 基质中目标元素的 2 J。酸浓度应该与样品溶液的酸浓度相近

(J: 是在限量水平的目标元素的浓度 (w/w), 适当稀释至仪器的工作曲线范围)

2. 配制标准溶液 2: 基质用目标元素的 0.5 J

3. 配制样品储备液 (对于汞, 建议加入稳定剂, 如盐酸)

4. 通过稀释, 配制样品溶液, 最终浓度不要超过 (NMT) 2 J

5. 配制空白液 (与基质匹配)

6. 根据厂商的建议, 设置 ICP-MS 和 ICP-OES

7. 分析标准溶液, 1, 2 和空白样品 (用于校正)

8. 分析稀释的样品, 并评价定量结果

9. 再次分析标样 1, 以测定平行误差

根据第 7 至 9 步, 测定系统适用性结果

系统适用性要求

10. 稳定性: 样品分析之前与样品分析之后的标准溶液 1 的分析结果进行比较

11. 适用性指标: 每个目标元素的误差在 NMT 20%

用于药典方法的 ICP-MS 的性能验证

虽然用于限量程序的性能验证要求从根本上遵循相同的过程和限量，下面的章节（根据 2011 年 5/6 月份修订的 USP <232>/<233>）描述了用于定量程序的 ICP-MS 性能验证的数据。根据 2011 年 5/6 月份修订的 USP <232>/<233> 获得的性能验证数据见参考文献 10。

使用的仪器是安捷伦 7700x ICP-MS，仪器的操作参数如表 5 所示。

表 5. 用于药物样品分析的 ICP-MS 的操作条件

ICP-MS 操作条件	
仪器	Agilent 7700x
等离子体模式	Normal, robust
射频正向功率 (W)	1550
采样深度 (mm)	8
载气流量 (升/分钟)	0.95
稀释气体流量 (升/分钟)	0.15
雾化室温度 (°C)	2
提取透镜 1 (V)	0
动能歧视电压 (V)	4
氦气碰撞池中的氦气流速 (mL/min)	4

根据新通则 USP <232>/<233> 中规定的分析物列表包括了几个特殊元素，它们在低浓度时，在用硝酸中进行样品制备（ICP-MS 分析中常用的样品制备方法）过程中，其化学稳定性较差。可能用于稳定不溶于硝酸元素的替代酸（盐酸和硫酸）应该不要用于 ICP-MS 分析中，这是因为它们会导致氯和硫的背景干扰。

然而，现在的 ICP-MS 仪器，如 7700x，其碰撞/反应池（CRC）技术能将干扰水平降低至可忽略水平，所以在常规分析中，可以使用 0.5% 盐酸进行样品制备。加入盐酸可以使得大多数的元素在一定时间内保持稳定。USP <232> 中规定的元素，这些元素中最重要的是汞，但是所有的铂族元素（铂族元素）也要求加入盐酸使得低浓度元素保持化学稳定。氦气模式使得方法开发变得非常简单，同样的仪器条件可用于所有的元素分析。

图 7 所示是砷、镉、汞、铅、钡和铂的校正曲线，样品用 2% 的硝酸/0.5% 盐酸制备，在安捷伦 7700x 上以氦气模式进行测定。这些元素的校正曲线表明，检测限小于等于 1 ng/L，即使对于需要盐酸为稳定剂的元素（汞、钡和铂），也具有有良好的灵敏度和线性。

如表 6 所示，ICP-MS 的检测限性能进一步显示了安捷伦 7700x ICP-MS 的优点。表中所示的方法检测限可以通过未加标消解的 GelCap 样品 (n=10) 的 3σ 值计算得到。1 J 的真实限量是根据稀释 250 倍的样品得到的（如含 0.2 g 的 50 mL 样品）。注意：表 6 中的数据包括大多数元素的几个同位素；主（或首选）同位素，和第二（或定性离子）同位素。定性离子在有机质谱中是很常用的，它是 ICP-MS 分析人员应对 USP <233> 要求的目标分析物的“确证”鉴别分析的一个有用的方法。详细的信息，请参考文献 10。

USP <233> 定义了“系统适用性检查”，它要求选用的方法的平行误差不能超过 20%（用 2 J 标样，在样品分析之前和分析之后的测试结果进行比较）。表 7 所示，7700x 的稳定性远远优于法规要求的性能，对于大多数元素，其平行误差大约在 2 或 3%。

加标回收率（真值的 70% 至 150% 之间）必须用几个加标浓度为目标浓度的 0.5 倍到 1.5 倍（在 0.5 J 和 1.5 J 之间）间来测定准确。如表 8 所示，7700x 上得到的两个加标浓度的回收率（很容易符合 70% 至 150% 的要求），其结果精密度为百分之几，很容易符合验收指标，即在 0.5 J 和 1.5 J 的加标水平，其相对标准偏差小于 20%。

还必须证明定量程序满足“耐用性”测试的性能要求。通过不同的仪器或不同的分析人员进行的日间重复性试验。使用安捷伦 7700x ICP-MS 得到的数据（加标浓度在 0.5 J 的 GelCap 样品，详细参见参考文献 10），很容易满足法规要求，即两组样品分析之间的质控样品的分析结果的误差在 25% 以内，实际结果表明，大多数元素在 5% 左右，且全部小于 10%。

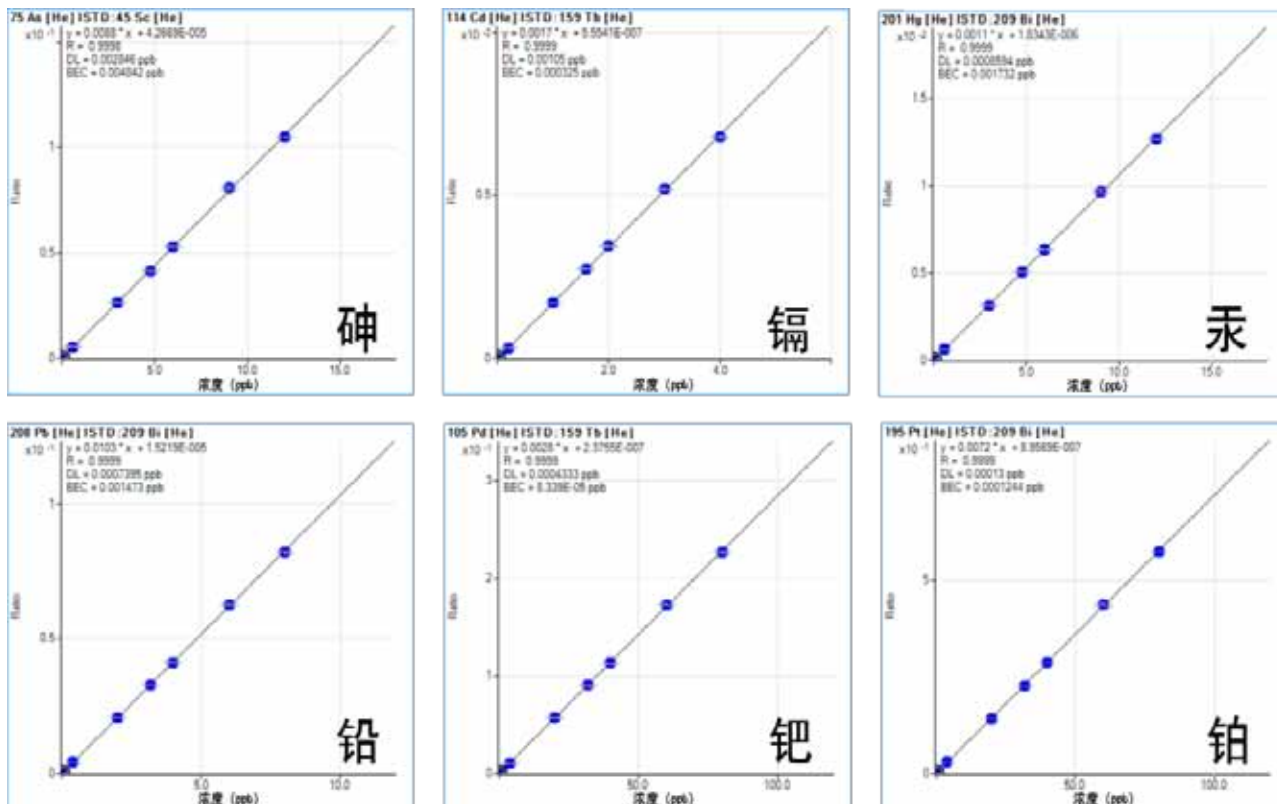


图 7. USP <232>/<233> 中规定的元素的 ICP-MS 校正曲线

总体而言，ICP-MS 系统性能验证的数据很满足准确度、稳定性和加标回收率的要求，而且其检测限比微量元素要求限量低几个数量级。即使要求限量将来明显降低时，也可确保 7700x 能满足美国药典方法中中医药材料的法规要求。

7700x 标准配置的氦气碰撞池模式的另一个优点是，它支持 USP <233> 关于目标组分“明确”鉴别和定量分析的要求，这是因为氦气模式可以消除来自目标组分中所有同位素的干扰，使得“定性离子”或“确认离子”可以用于结果的确认。

现代 ICP-MS 系统，如 7700x 具有全质量范围的质谱扫描分析能力，能耐受所有的常用有机试剂，以及在总砷和总汞超标时，与色谱联用进行的砷和汞的形态分析。这些其它的功能参见第七章。

表 6. ICP-MS 的检测限与方法要求（根据 2011 年 5/6 月修订版）的比较。J 值是 250 倍稀释因子

*MDL 为加标的 GelCap 样品的 10 分析结果计算得到的方法检测限

质量	元素	碰撞模式	内标	积分时间 (s)	每日摄入量 PDE (ug/day)	组分限量 (ug/g)	1J 真值 (ng/mL)	最低检测限 MDL* (ng/mL)
51	V	He	Sc	0.5	250	25	100	0.162
52	Cr	He	Sc	0.5	250	25	100	0.176
53	Cr	He	Sc	0.1	250	25	100	0.261
55	Mn	He	Sc	0.5	2500	250	1000	1.694
60	Ni	He	Sc	0.5	250	25	100	0.359
62	Ni	He	Sc	0.5	250	25	100	0.339
63	Cu	He	Sc	0.5	2500	250	1000	1.333
65	Cu	He	Sc	0.5	2500	250	1000	1.114
75	As	He	Sc	1	15	1.5	6	0.015
95	Mo	He	Tb	0.5	250	25	100	0.180
97	Mo	He	Tb	0.5	250	25	100	0.183
101	Ru	He	Tb	0.5	100	10	40	0.063
103	Rh	He	Tb	0.5	100	10	40	0.070
105	Pd	He	Tb	0.5	100	10	40	0.063
111	Cd	He	Tb	0.75	5	0.5	2	0.005
114	Cd	He	Tb	0.75	5	0.5	2	0.004
188	Os	He	Bi	0.5	100	10	40	0.274
189	Os	He	Bi	0.5	100	10	40	0.270
191	Ir	He	Bi	0.5	100	10	40	0.065
193	Ir	He	Bi	0.5	100	10	40	0.062
194	Pt	He	Bi	0.5	100	10	40	0.064
195	Pt	He	Bi	0.5	100	10	40	0.066
200	Hg	He	Bi	2	15	1.5	6	0.059
201	Hg	He	Bi	2	15	1.5	6	0.060
202	Hg	He	Bi	2	15	1.5	6	0.061
206	Pb	He	Bi	0.5	10	1	4	0.013
207	Pb	He	Bi	0.5	10	1	4	0.014
208	Pb	He	Bi	0.5	10	1	4	0.011

表 7. ICP-MS 系统适用性 (漂移) 性能 (GelCap 样品分析前后的质控样分析)

质量	元素	2J 实际值	测量的平均值 (N=6)	% RSD	漂移 (%)	限量
51	V	200	202.3	0.6	-0.3	20%
52	Cr	200	202.0	0.6	-0.5	20%
53	Cr	200	202.9	0.9	-0.5	20%
55	Mn	2000	2025.8	1.2	2.6	20%
60	Ni	200	202.3	0.7	-0.9	20%
62	Ni	200	201.9	0.8	-1.5	20%
63	Cu	2000	2105.4	2.8	7.0	20%
65	Cu	2000	2112.4	3.1	7.5	20%
75	As	12	12.2	0.8	-1.7	20%
95	Mo	200	202.2	0.5	-0.5	20%
97	Mo	200	202.2	0.6	-0.5	20%
101	Ru	80	80.6	0.9	2.1	20%
103	Rh	80	80.3	0.9	2.1	20%
105	Pd	80	80.3	0.8	1.5	20%
111	Cd	4	3.9	0.8	-0.1	20%
114	Cd	4	4.0	0.6	0.0	20%
188	Os	80	78.3	1.3	-2.9	20%
189	Os	80	78.4	1.2	-2.6	20%
191	Ir	80	81.6	1.5	3.6	20%
193	Ir	80	81.7	1.4	3.2	20%
194	Pt	80	82.0	1.6	3.7	20%
195	Pt	80	82.1	1.6	4.0	20%
200	Hg	12	12.2	1.3	3.1	20%
201	Hg	12	12.2	1.6	3.6	20%
202	Hg	12	12.2	1.5	3.2	20%
206	Pb	8	8.0	0.6	0.9	20%
207	Pb	8	8.0	0.6	1.1	20%
208	Pb	8	8.0	0.6	1.2	20%

表 8. 在 0.5 J 和 1.5 J 的 GelCap 样品的 ICP-MS 的加标回收率。0.5 J 与 1.5 J 水平时, 限制为 20%RSD

质量	元素	0.5J 的样品		回收率		1.5J 的样品		回收率	
		真值	平均	%	%RSD	真值	平均	%	%RSD
51	V	50	52.84	106	1.6	150	157.4	105	1.6
52	Cr	50	52.63	105	2.3	150	155.9	104	1.4
53	Cr	50	52.74	106	2.2	150	157.2	105	1.6
55	Mn	500	524.0	105	1.7	1500	1696	113	1.1
60	Ni	50	52.96	106	1.9	150	155.9	104	1.5
62	Ni	50	52.72	105	1.9	150	156.1	104	1.5
63	Cu	500	523.9	105	1.7	1500	1733	116	1.4
65	Cu	500	524.0	105	1.2	1500	1727	115	1.4
75	As	3	3.21	107	3.9	9	9.53	106	3.2
95	Mo	50	52.61	105	1.8	150	157.5	105	1.5
97	Mo	50	52.65	105	1.6	150	157.1	105	1.4
101	Ru	20	20.75	104	2.0	60	62.64	104	1.2
103	Rh	20	20.91	105	2.0	60	62.57	104	1.2
105	Pd	20	20.77	104	2.2	60	62.19	104	1.2
111	Cd	1	1.03	103	2.7	3	3.04	101	1.2
114	Cd	1	1.04	104	2.5	3	3.08	103	1.3
188	Os	20	17.15	86	1.8	60	52.51	88	1.3
189	Os	20	17.17	86	1.6	60	52.63	88	1.2
191	Ir	20	20.56	103	1.6	60	63.33	106	1.2
193	Ir	20	20.63	103	1.9	60	63.42	106	1.1
194	Pt	20	20.63	103	1.8	60	63.77	106	1.2
195	Pt	20	20.64	103	1.6	60	63.87	107	1.1
200	Hg	3	3.09	103	2.0	9	9.51	106	1.3
201	Hg	3	3.09	103	2.3	9	9.47	105	1.0
202	Hg	3	3.08	103	1.9	9	9.47	105	1.3
206	Pb	2	2.08	104	1.9	6	6.21	104	1.5
207	Pb	2	2.08	104	1.9	6	6.22	104	1.4
208	Pb	2	2.08	103	2.1	6	6.20	103	1.1

替代程序的验证

美国药典允许使用替代程序，但需要通过药典公告。在通则 <233> 中关于元素杂质的特别声明：“任何替代程序，只要通过验证并满足验收指标，就等同于药典测试程序”。另外，还要对用于系统的方法适用性进行验证。通则 <233> 介绍了两种验证程序。

限量程序

限量程序应该用于检测限、短期精密度（重现性）和特定性。参数、测试方法和验收指标如表 9 所示。详细可以参见美国药典通则 <233> [30]。

表 9. 用于替代（非仪器）分析方法的限量验证

参数	测试	接受标准
检测限 (1)	加标样品与标样的响应值的比较	加标样品的响应高于标样的响应
检测限 (2)	在目标浓度的 80% 的加标样品的响应	响应低于限量值 100% 的加标响应
特异性	测定其它组分的响应	当目标组分存在时，每个元素必须用确认离子进行定性

定量程序

定量程序应该测试准确性、短期精密度（重复性）、耐用性（中间精密度）和特定性。参数、测试方法和接受指标如表 10 所示。在整个规定数量范围内满足精度要求来间接证明定量限、线性范围。

表 10. 替代（非仪器）分析方法的定量程序的验证

参数	测试	接受标准
准确性	0.5 J 和 1.5 J 之间的加标样品和标样的比较	70–150% 的回收率
精密度（重现性）	6 个 1.0 J 水平的加标空白样品的分析	RSD < 20% (n = 6)
精密度（中期精密度）	重复性测试：独立的分析人员、不同的系统、两天或更多的天数（只要一组测试）	RSD < 25%(n = 12)
特异性	测量其它可能存在组分的响应	程序必须能够明确评估每个可能存在的元素
定量限，范围，线性	无	准确度满足要求

7. 医药实验室的其它应用

有机溶剂分析

许多原料药只溶解于有机溶剂，如二甲基亚砜，乙二醇甲醚或 2-丁氧基乙醇水溶液。很多实验室都需要进行有机溶剂的常规检测，由于 ICP-OES 对于有机溶剂中低浓度组分检测灵敏度的限制，所以一些实验室更倾向于 ICP-MS 用于此类检测。

安捷伦 7700x ICP-MS 提供了用于大多数有机溶剂的简单、常规的分析方法，包括那些医药实验室里常用的有机溶剂。

最近开发了一种全新的内径为 1.5 毫米的有机炬管用于 7700，在挥发性有机溶剂的耐受性方面，新炬管比以前的 1 毫米炬管的灵敏度更高。

除了新的炬管设计，新版的 ICP-MS MassHunter 软件和 7700 上更新的固件 (firmware) 优化了在点火程序中的流速和载气的程序、补充气和气体参数选项。这大大提高了等离子体对有机溶剂的耐受性，以及在有易挥发性有机溶剂存在时，也能得到等离子体火焰。

元素形态的测定

USP <232> 部分包含有关元素 (形态) 的基本形式，并指出，砷和汞是最受关注的两个元素，因为这两个元素某些形态的毒性远远高于其它元素。砷的 PDE 是基于无机砷，如果总砷的浓度超标，则必须检测砷的形态并且定量。

因为无机砷的毒性远远高于其它常见的有机形态，如砷甜菜碱，因此有必要进行砷形态的分析，以确认无机砷的含量——三价砷和五价砷的总量——低于限量。安捷伦 7700 ICP-MS 很容易与液相色谱联用，用于 USP <232> 中规定的砷形态的分析，如图 8 所示。

安捷伦 1260 液相色谱/7700x ICP-MS 用于三价和五价砷分析的色谱图和校正曲线，结果表明，分析速度很快 (少于 12 分钟)，三价砷和五价砷与其它砷形态能完全分离。

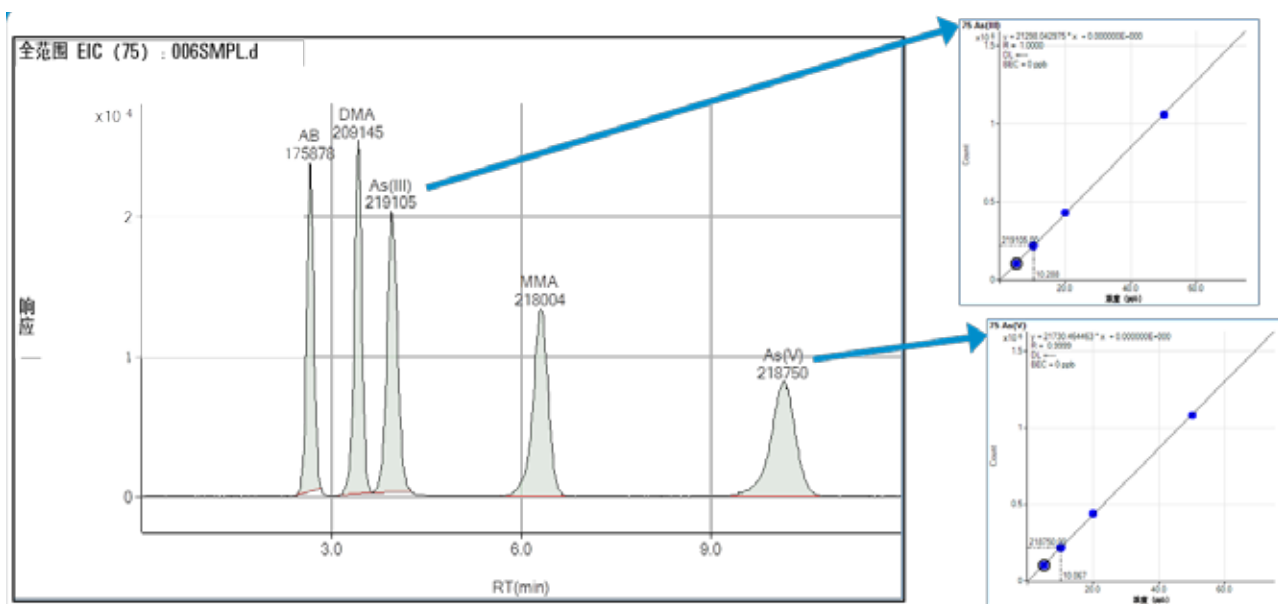


图 8. LC-ICP-MS 分析无机砷 (As (III) 和 As (V)) 的色谱图和校正曲线

全扫描或半定量分析

除了新版 USP <232> 中规定的 16 个元素的高灵敏度和可靠的（无干扰）分析，7700x 的氦气模式还提供了独特的扫描能力。不管是什么样的样品基质，氦气模式消除了多原子干扰，所以氦气模式的全扫描功能提供了简单的、易解析的谱图，从一次简单的快速扫描即可获得完整的元素组成，如图 9 所示。

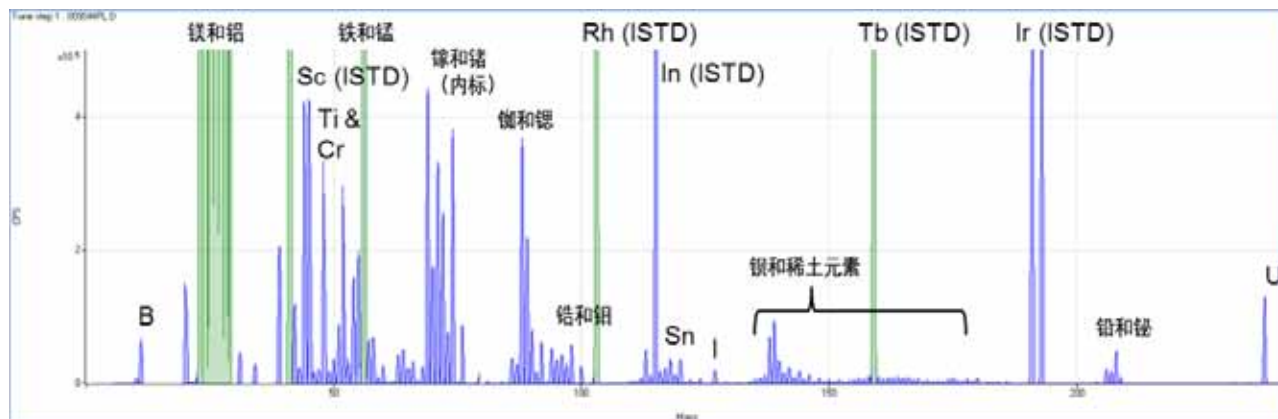


图 9. 使用 ICP-MS 对天然产物进行全质量范围扫描或半定量测定的应用举例

参考文献

1. Blake, K. B. (1995). Harmonization of the USP, EP, and JP heavy metals testing procedure. *Pharm. Forum*, 21(6), 1632–1637.
2. Wang, T., Wu, J., Hartman, R., Jia, X. & Egan, R. S. (2000). A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23, 867–890.
3. Lewen, N., Mathew, S., Schenkenberger, M. & Raglione, T. (2004). A rapid ICP-MS screen for heavy metals in pharmaceutical compounds. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35, 739–752.
4. Lorenz, M. A., Wang, D. D. & Angus, P. D. A. (2006). Analysis of residual metals and organometallics by high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS). *American Pharmaceutical Review*, July/August, 49–53.
5. Lira, S., Brush, P., Senak, L., Wu, C. & Malawer, E. (2008). The use of inductively coupled plasma–optical emission spectroscopy in the determination of heavy metals in crospovidone and povidone as a replacement for the concomitant visual comparison test. *Pharm. Forum*, 34(6), 1613–1618.
6. DeStefano, A. J., Zaidia, K., Cecil, T. L. & Giancaspro, G. I. (2010). Elemental impurities — Information. *Pharm. Forum*, 36(1), 1–9.
7. Fliszar, K. A., Walker, D & Allain, L. (2006). Profiling of metal ions leached from pharmaceutical packaging, PDA. *J. Pharm. Sci. and Tech.*, 60, 337–342.
8. Li, Y-X., Huang, W-F., & Yuan, K. (2011). Determination of trace elements and heavy metal in different parts of *Rabdosia rubescens*. *J. Chem. Soc. Pak.*, 33(3).
9. Xia, B., Lu, Z., Wang, X-M., Wang, K. & Ji, S. (2007). Fast determination of five toxic elements in traditional Chinese medicine (TCM). Agilent application note, publication number 5989-7590EN.
10. Hussain, S., Liba, A. & McCurdy, E. (2011). Validating the Agilent 7700x ICP-MS for the determination of elemental impurities in pharmaceutical ingredients according to draft USP general chapters <232>/<233>. Agilent application note, publication number 5990-9365EN.
11. Agilent Technologies (2009). Analytical Instrument Qualification and System Validation. Primer, publication number 5990-3288EN.
12. Agilent Technologies (2010). Validation of Analytical Methods. Primer, publication number 5990-5140EN.
13. Agilent Technologies (2005). ICP-MS: Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry. Primer, publication number 5989-3526EN.
14. Huber, L. (1998). Validation and Qualification in Analytical Laboratories. Interpharm, Informa Healthcare, New York, USA. Second revision 2007.
15. GAMP, Good Automated Manufacturing Practice, A Risk-Based Approach for Compliant GxP Computerized Systems. Version 5, 2008.
16. U.S. FDA (2006). Guidance for Industry: Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production.
17. U.S. FDA (2003). Guidance for Industry: Part 11, Electronic Records; Electronic Signatures — Scope and Applications.
18. Commission of the European Communities. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Volume 4, Good Good Manufacturing Practices, Medicinal Products for Human and Veterinary Use.
19. EMA (2002). Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalyst or Metal Reagents.
20. ICH (2009). ICH Q3D: Impurities — Guideline for Metal Impurities. Final Concept Paper, Endorsed by the Steering Committee.
21. ICH (2009). ICH Q3D: Impurities — Guideline for Metal Impurities. Business Plan.
22. ICH (2005). ICH Q2(R1), Validation of Analytical Procedures: Definitions and Methodology. Geneva, in 2005 incorporated in Q2(R1).
23. PICS (2005). Inspection of Pharmaceutical Quality Control Laboratories.
24. USP Chapter <1058>, Analytical Instrument Qualification. Rockville, USA, 2008.
25. USP Chapter <1224>, Transfer of Analytical Procedures. Rockville, USA, 2012.
26. USP Chapter <1225>, Validation of Compendial Methods. Rockville, USA, 2012.
27. USP Chapter <1226>, Verification of Compendial Methods. Rockville, USA, 2012.

28. USP Chapter <231>, Heavy Metal Analysis. Rockville, USA, 2012.
29. USP Chapter <232>, Elemental Impurities — Limits, Second Supplement to USP 35 - NF 30, June 2012.
30. USP Chapter <233>, Elemental Impurities — Procedures, Second Supplement to USP 35 - NF 30, June 2012.
31. Elemental Contaminants in Dietary Supplements (<2232>). Pharmacopeial Forum, 36(1) Jan/Feb 2010, update PF 37(3), May/June 2012.
32. U.S. FDA, Title 21 of the U.S. Code of Federal Regulations: 21 CFR 11 "Electronic Records; Electronic Signatures".
33. EU GMP, Chapter 4, Documentation. 2011 update.
34. Computerized Systems, Annex 11 to the EU Guide to Good Manufacturing Practice. 2011 update.
35. EPA, Environmental Criteria and Assessment Office, Office of Health and Environmental Assessment (1996). Integrated Risk Information System (IRIS). Cincinnati, Ohio.

词汇表

API	原料药	SST	系统适用性测试
CFR	(美国) 联邦法规	USP	美国药典
cGMP	现代优良生产规范		
DQ	设计验证		
EMA	欧洲药品管理局 (前身是 EMEA)		
EP	欧洲药典		
EU	欧盟		
FDA	食品药品监督管理局		
GAMP	优良自动生产规范		
GCP	优良临床规范		
GLP	优良实验室规范		
GMP	优良生产规范		
GxP	优良规范 X 表示临床, 实验室, 或生产		
ICH	国际协调会议		
ICP-MS	电感耦合等离子质谱		
ICP-OES	电感耦合等离子发射光谱		
IQ	安装验证		
JP	日本药典		
LVP	大体积肠道		
NOEL	未观察到作用的剂量		
OOS	超标		
OQ	操作验证		
PDE	允许日暴露量		
PF	药典论坛		
PGEs	铂族元素 (铂、钯、钌、铑、铱)		
PGMs	铂族金属 (铂、钯、钌、铑、铱)		
PIC/S	药品检查公约/合作计划		
PQ	性能验证		
QA	质量保证		
QC	质量控制		
SOP	标准操作规程		

更多信息

www.agilent.com/lifescience/pharma

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心:

免费专线: 800-820-3278

400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

customer-cn@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/quote:cn

本资料中的信息、说明和指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2012

2012年7月3日, 中国印刷

5991-0436CHCN