

AQbD 理念下的《中华人民共和国药典》与 ICH Q2 分析方法验证指导原则解析与实例探讨

邵方娴^{1,2}, 黄朝瑜^{1,2}, 严菲^{1,2}, 王玉¹, 李睿^{1,2*}

(1 江苏省药品监督检验研究院, 南京 210019; 2 国家药品监督管理局化学药杂质谱重点实验室, 南京 210019)

[摘要] ICH Q2 和《中华人民共和国药典》2025 年版通则〈9101〉分析方法验证指导原则对分析方法开发和验证有重要价值。本文通过指导原则内容对比和解析, 结合分析方法验证实例探究基于分析方法质量源于设计(AQbD)理念的分析方法验证策略, 以期为药物分析和药品质量控制工作提供借鉴。

[关键词] 分析方法质量源于设计; 分析方法验证; 指导原则

[中图分类号] R917; R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2026)01-0006-05

AQbD-based analysis and case studies: interpretation of Chinese Pharmacopoeia and ICH Q2 analytical procedure validation guidelines

SHAO Fang-xian^{1,2}, HUANG Chao-yu^{1,2}, YAN Fei^{1,2}, WANG Yu¹, LI Rui^{1,2*}

(1 Jiangsu Institute for Drug Control, Nanjing 210019, China; 2 Key Laboratory of Chemical Impurity Spectrometry, National Medical Products Administration, Nanjing 210019, China)

[Abstract] Both ICH Q2 guidelines and the general chapter 〈9101〉 of the 2025 Chinese Pharmacopoeia are of significant value for analytical procedure development and validation. By comparing and interpreting these regulatory guidelines, and through practical validation examples, this paper explores Analytical Quality by Design (AQbD)-based analytical procedure validation strategies. This study aims to provide reference and insights for pharmaceutical analysis and drug quality control practices.

[Key words] analytical quality by design; procedure validation; guidelines

质量源于设计(quality by design, QbD)是一套系统的、基于充分科学知识和质量风险管理的研发方法, 从预先确定的目标出发, 强调对产品和工艺的理解以及工艺控制^[1]。ICH Q8 ~ Q12 中明确指出 QbD 适用于分析方法的设计、验证和持续验证, 这就形成了分析方法质量源于设计(analytical quality by design, AQbD)的理念。Musters 等^[2]将 AQbD 概

括为一种系统的研究方式, 以预定义的分析目标概况(analytical target profile, ATP)为基础, 在方法开发的过程中, 对方法科学性的理解不断深入, 方法的可靠性不断提高, 在方法全生命周期内持续确认并加以改进。

分析方法验证是为了证明分析方法符合预期目的^[3-4]。确立预期目的有助于获得适宜的分析方法。传统的分析方法验证通过进行一系列“一次性”的验证试验, 预期目的被理解为一系列通用的强制要求, 缺乏对方法风险的前瞻性控制, 难以适应监管要求的动态调整^[5]。随着 AQbD 理念和生命周期管理理念在分析方法中广泛应用, 分析方法验证向科学化和系统化转变, 显著提升了分析方法的耐用性和可持续性, 并为批准后的分析方法变更提供

[基金项目] 国家药典委员会课题(2022Y05)

[作者简介] 邵方娴, 女, 副主任药师, 主要从事药物分析工作。
E-mail: medicine-sfx@163.com。

[通讯作者] *李睿, 女, 主任药师, 主要从事药物质量管理工作。
E-mail: lirio@jsfd.org.cn。

[DOI] 10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.01.002

灵活的监管思路。

ICH 指导原则是各国药典修订的重要参考依据,随着 ICH 指导原则在我国全面转化实施方面取得显著成就,《中华人民共和国药典》2025 年版修订四部通则〈9101〉分析方法验证已与 ICH Q2 保持一致。通则〈9101〉和 Q2(R2)清晰地建立了性能特征与验证研究之间的联系,并为验证实施方式提供了更大的灵活性。本文拟对《中华人民共和国药典》2025 年版四部通则〈9101〉和 ICH Q2(R2)分析方法验证指导原则的内容进行对比和解析,结合实例探究基于 AQBd 理念的分析方法验证策略,供同行讨论参考。

1 分析方法验证指导原则适用范围

《中华人民共和国药典》2025 年版四部通则〈9101〉和 ICH Q2(R2)均将指导原则的适用范围进行了扩展。ICH Q2(R2)适用范围为用于商业化的原料药和制剂放行检测和稳定性试验所用的分析方法。基于风险评估,该指导原则也适用于为保证工艺性能和产品质量而使用的其他分析方法;指导原则中阐明的科学原则适用于临床试验期间与临床阶段对应的分析方法验证。主要用于含量测定、效价、纯度、杂质(定量或限度检查)、鉴别或其他定量或定性等常规检测,并增加了分析方法类型多样性,除色谱法外,还包括光谱法以及生物分析方法,几乎覆盖所有类型分析方法。ICH Q2(R2)附录 2 中提供了分析技术的说明性示例,能够帮助分析工作者更好地理解指导原则的相关内容。

通则〈9101〉明确该指导原则提供关于实施和评价分析方法各种验证试验的指导和建议,适用于中药、化学、生物/生物技术的药物原辅料及其制剂新建或修订的分析方法,也适用于基于风险控制策略的其他分析方法。

2 生命周期管理内的方法验证

《美国药典》通则〈1220〉中阐述了分析方法生命周期的 3 个阶段,分别为:① 方法开发。② 方法性能确证。③ 持续方法性能确认,其中分析方法确证包括方法验证、转移和确认。预定义的分析目标概况贯穿于方法的整个生命周期,为方法是否满足预期目的提供判定标准;每个阶段产生的新知识和获得的数据均用于指导决策,这就为简化验证提供了依据,主要体现在以下方面。

第一,分析方法开发过程中获得的数据可替代验证数据。Guichard 等^[6]采用计算机辅助方法开发

UHPLC-MS 法用于测定 24 种肿瘤药物,在方法开发阶段中采用全因子设计(九因素三水平)实验,以同量异位素化合物分离度为评价指标,通过析因分析确定流动相 pH 值和梯度洗脱程序的起始比例是影响分离的主要因素,采用试验设计和计算机模拟的方法进一步确定了参数范围,这部分数据可直接作为耐用性研究数据使用。

第二,方法开发过程中获得的知识和数据可用于评估分析性能受变更影响的程度,从而指导分析方法变更后的再验证。Tome 等^[7]对基于 AQBd 理念的色谱分析方法开发与优化的工作流程进行了总结,即预定义 ATP→风险评估→筛选方法关键因素→优化方法→设计空间(耐用性研究),设计空间由 2 个或多个变量组合的范围组成,在该范围内分析方法符合预期目的,因此设计空间可被看作是方法的耐用范围,设计空间是通过试验设计和数据统计获得的,从监管的角度来看,在设计空间内的任何内部变动不属于变更而只是调整,不需要对方法进行重新验证。

第三,联合验证可证明参与实验室之间方法转移符合要求。王文波等^[8-9]分别建立了高效阴离子色谱结合脉冲安培检测法和毛细管电泳结合激光诱导荧光检测法用于单抗 N 糖谱检测,通过组织多家企业参与方法学共同验证并将验证结果用于国家药品标准提高。

第四,已验证的平台分析方法用于新目的时可简化验证。Smith 等^[10]介绍了用于测定治疗性单克隆抗体(单抗)纯度的微流控毛细管凝胶电泳分析平台方法的建立与验证,通过 DOE 实验确定方法参数设计空间,并使用 12 种不同类型的其他单抗进行方法学验证。该分析平台方法应用于新产品时,只需对准确度、专属性和范围下限等关键性能特征进行验证,无需重复验证其他性能特征。

3 多变量分析方法

随着统计工具和机器辅助学习技术的广泛应用,通则〈9101〉和 ICH Q2(R2)引入了多变量分析方法的验证要求,包括对校正、内部测试和验证的全面要求,强调了在多变量分析中对数据预处理和模型预测残差的评估,这有助于提高多变量分析方法的验证质量和预测准确性。

Li 等^[11]建立了基于拉曼光谱法的在线过程分析技术用于片剂进料混合监控,并进行了方法验证,线性范围验证采用建立分析性能指标(API)预测浓

度与 HPLC 参考值的关系图来确定,准确度的验证是将验证集的预测均方根误差 (RMSEP) 与校准均方根误差 (RMSEC),交叉验证均方根误差 (RMSECV) 与检验集的均方根误差 (RMSEP) 进行方差齐性 F 检验,确定拉曼预测与参考值的方差是否具有一致性,通过双单侧 t 检验验证拉曼预测值与参考值的统计等效性。RMSEC/CV 和 RMSEP 计算如下:

$$\text{RMSEC/CV} = \sqrt{\frac{\sum (\hat{y}_i - y_i)^2}{n - N}}$$

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}}$$

其中 \hat{y}_i 为 API 预测浓度, y_i 为正交方法 API 测定值, n 为考虑的数据集的样本数量, N 为模型中使用的因子数量。

4 验证试验、方法学和评价内容

ICH Q2(R2) 和通则〈9101〉将产品的质量属性与分析方法的性能特征联系起来,以确保药品在研发到生产的全生命周期中安全、有效和质量可控。相比于 ICH Q2(R1) 和《中华人民共和国药典》2020 年版通则〈9101〉,ICH Q2(R2) 和《中华人民共和国药典》2025 年版通则〈9101〉规定需验证的性能特征为专属性/选择性、范围、准确度和精密度,且明确分析方法验证具有更大的灵活性,可根据分析方法的预期用途和所采用的具体技术,选择一组适当的性能特征及其标准进行验证。引入选择性作为专属性的替代评价,通则〈9101〉还提出过高或过低地要求方法的专属性既不切实际也不科学,体现了 2 个指导原则支持基于风险的方法验证实践。以范围代替线性作为主要性能特征,以确保任何类型的校准模型(线性、非线性或多元)经验证后都可以用于样品的分析。耐用性不再作为需要验证的性能特征,而是应在方法开发阶段就纳入研究,从而确定需要控制的分析方法参数和系统适用性试验。通则〈9101〉还提出应以统计学方法评价分析方法验证结果。

4.1 专属性/选择性 ICH Q2(R2) 和通则〈9101〉定义了专属性和选择性的含义,专属性通常用于描述最终状态,即方法具有完全的选择性,选择性则是一个相对术语,用于描述混合物或基质中特定被分析物可被检测且不受具有类似行为的其他组分的干扰程度。相较于现行指导原则增加了 2 种验证方法,即与正交方法比较和利用技术的固有合理性来免除验证试验。通则〈9101〉中增加了中药鉴别和

中药分析中专属性/选择性的考察方法,并强调验证方法应基于具体的方法。

稳定性指示方法(stability-indicating methods, SIMs) 是分析方法的一个重要类别^[12],用于跟踪生产过程中形成的杂质和贮存时产生的潜在杂质,这就要求方法具有稳定性指示特性,验证过程中可采用含有相关降解产物的样品,包括使用加标分析物和含所有已知干扰物的样品,已暴露于各种物理和化学强制条件下的样品,或实际过期或经过强制条件存储的样品,以确保验证结果的真实性和可靠性,以更全面地评估分析方法的稳定性。但是在实际的分析方法验证中还应根据方法的预期目标进行有针对性的验证。

Yuill 等^[12]建立了药物有关物质 UHPLC 检测方法并进行验证,在方法开发阶段采用强制降解试验考察方法稳定性指示特性时发现氧化降解物与 API 共洗脱,研究者通过优化降解试验条件(降低过氧化氢浓度和增加采样时间点)以确定产生的降解杂质能反映真实储存条件下样品的降解,接着通过 DryLab 软件进行计算机模拟,系统探索色谱柱温度与梯度条件的优化空间,从而改善氧化降解物与 API 的分离效能并确定最优条件。

4.2 范围 ICH Q2(R2) 和通则〈9101〉中“范围”这个性能特征的内涵更加丰富,包含响应和范围下限(包括定量限和/或检测限)。首先区分分析方法的范围、工作范围以及可报告范围的含义,可报告范围通常来源于质量标准并取决于方法的预期用途,应包括产品标准限度的上限和下限或报告限度;工作范围对应于待测质量属性(如含量或纯度)在分析仪器上的最低和最高水平,在此范围内分析方法提供可靠结果;分析方法的范围指分析方法能达到适当水平的响应、精密度和准确度,具有良好校正关系的最高和最低结果的区间,三者是不同的概念,其中工作范围应不小于可报告范围,必要时用多个工作范围覆盖可报告范围。相较于 ICH Q2(R2) 中提到的线性响应、非线性响应和多变量校正,通则〈9101〉还增加了相对响应,并为化药有关物质、中药及其复方制剂多指标成分测定时常采用的校正因子法的制订提供了依据。

ICH Q2(R2) 和通则〈9101〉规定了“如待测量的质量属性要求分析方法范围接近该方法的范围下限”时定量限和检测限的估算方法,为范围下限灵活验证提供了依据,但同时规定应使用实际样品进

行验证。

4.3 准确度和精密度 ICH Q2(R2)和通则<9101>中提出了准确度和精密度可独立验证也可联合验证,其中独立验证较为简单,联合验证可以通过使用概率和置信度来定量误判风险^[13]。

《美国药典》通则<1220>中 ATP 项下的 2 个示例有助于理解准确度和精密度的独立验证和联合验证。

示例 1:存在干扰条件 $[x, y, z]$ 的情况下,分析方法必须能够在可报告范围[A 单位]至[B 单位]内对样品进行准确定量,报告值的准确度 = 100% ± [D%],精密度 ≤ [E%],即方法中对准确度和精密度分别设定了方法性能标准,需要对准确度和精密度进行独立验证。

示例 2:存在干扰条件 $[x, y, z]$ 的情况下,分析方法必须能够在可报告范围[A 单位]至[B 单位]内对样品进行准确定量,报告值的总分析误差分布在总分析误差允许范围 ± [C%]内。其中,总分析误差指测试结果由于不准确和不精密而产生的总误差,综合了方法的系统误差和随机误差,是准确度和精密度的合成^[13]。该示例要求总分析误差(total analytical error, TAE)的分布满足目标范围,这是一种联合验证,即以方法开发中生成的数据确定最佳方法以及适宜的方法性能标准,对准确度和精密度进行综合评估。

精密度的验证内容包括重复性、中间精密度和重现性,中间精密度和重现性属于风险评估范畴,鼓励在方法开发中使用试验设计进行相关研究,从而简化验证。通则<9101>删除前版中基于 HORWITZ 方程对准确度和精密度要求的相关描述^[14],而是要求提供与对应准确度和精密度可接受标准相匹配的置信区间。

4.4 耐用性 耐用性是考察分析方法参数微小但刻意变化对方法重现性的影响。ICH Q2(R2)和通则<9101>基于分析方法风险管理的考虑,建议在方法开发阶段考察分析方法的耐用性,同时指出耐用性考察变动因素不应只关注分析方法参数,还应关注预处理条件和试剂来源。耐用性研究^[15-20]常使用统计软件进行试验设计(DOE)和数学建模,从而识别关键因素并建立方法的设计空间。本课题组^[21]在恩格列净原料及片剂有关物质方法建立过程中,采用全因子实验设计筛选流动相体系、色谱柱填料和梯度洗脱程序 3 个因素对杂质分离影响最显

著的条件,并识别出难以分离的两组杂质作为关键方法属性用于后续方法优化,第二步采用 Box-Behnken 模型法优化流速、柱温和梯度拐点浓度并识别最小分离度设计空间,利用 LabSolution MD 软件直观地反映了耐用性范围,方法验证中无需重复研究。

Li 等^[11]研究建立的拉曼光谱法属于多变量分析方法,其耐用性评价是通过改变压片速度和混合浓度后测定验证集样品,计算 RMSEP 并采用多重 t 检验($\alpha = 5\%$)分析不同试验条件下拉曼预测值的统计学差异。

4.5 系统适用性 系统适用性是分析方法的组成部分,用于系统和方法性能特征的检查,属于分析方法控制策略内容,其设计内容应基于风险评估、方法开发过程特别是耐用性试验中获得的知识。丁晓丽等^[22]在对甘精胰岛素有关物质分析用系统适用性试验的研究中发现,部分企业参考《美国药典》拟定系统适用性试验,即考察甘精胰岛素与 O^A-甘精胰岛素的分离度,但不同企业提供的 O^A-甘精胰岛素在液相色谱上的保留时间不同,这导致系统适用性试验无法检查系统和方法性能特征。笔者在进行苯磺酸氨氯地平进口注册标准复核时,有关物质采用薄层色谱法分析,薄层板的类型和点样技术影响检测灵敏度,因此在系统适用性要求中增加灵敏度检查,以保证方法满足杂质检查的预期目的。

5 结语

分析方法在药品的开发和生产中起着关键作用。随着药品复杂性的增加,方法的复杂性也在增加,AQbD 理念为分析方法提供了系统的开发方式,促使分析方法验证策略改变。ICH Q2(R2)和新修订的《中华人民共和国药典》2025 年版通则<9101>旨在提供 AQbD 框架下的方法学验证体系,目前该验证体系在 LC 法中已有较多应用,其应用经验和思路可扩展到基于其他分析技术方法的全生命周期管理。

[参 考 文 献]

- [1] ICH. Q8 (R2). Pharmaceutical development[S]. 2009.
- [2] MUSTERS J, VAN DEN BOS L, KELLENBACH E. Applying QbD principles to develop a generic UHPLC method which facilitates continual improvement and innovation throughout the product lifecycle for a commercial API[J]. *Org Process Res Dev*, 2013, 17(1): 87-96.
- [3] ICH. Q2(R2). Validation of analytical procedures[S]. 2023
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2025 版. 四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2025.
- [5] TEASDALE A, BORMAN PJ, MULLEN AK. Regulatory highlights[J]. *Org Process Res Dev*, 2022, 26(4): 1029-1037.

- [6] GUICHARD N, FEKETE S, GUILLARME D, *et al.* Computer-assisted UHPLC-MS method development and optimization for the determination of 24 antineoplastic drugs used in hospital pharmacy[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 164: 395–401.
- [7] TOME T, ŽIGART N, CASAR Z, *et al.* Development and optimization of liquid chromatography analytical methods by using AQbD principles; overview and recent advances[J]. *Org Process Res Dev*, 2019, 23(9): 1784–1802.
- [8] 王文波, 武刚, 于传飞, 等. 毛细管电泳结合激光诱导荧光检测分析单抗 N 糖谱的方法学联合验证[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(1): 172–178.
- [9] 王文波, 武刚, 于传飞, 等. 高效阴离子色谱结合脉冲安培检测器分析单抗 N 糖谱的方法学联合验证[J]. *中国新药杂志*, 2020, 29(14): 1654–1659.
- [10] SMITH MT, ZHANG S, ADAMS T, *et al.* Establishment and validation of a microfluidic capillary gel electrophoresis platform method for purity analysis of therapeutic monoclonal antibodies[J]. *Electrophoresis*, 2017, 38(9–10): 1353–1365.
- [11] LI Y, ANDERSON CA, DRENNEN JK 3rd, *et al.* Method development and validation of an inline process analytical technology method for blend monitoring in the tablet feed frame using Raman spectroscopy[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(14): 8436–8444.
- [12] YUILL EM, ILEKA KM, LA CRUZ TE, *et al.* Leveraging AQbD principles for development of challenging drug substance stability-indicating methods[J]. *Org Process Res Dev*, 2021, 25(6): 1431–1439.
- [13] 伊博文, 张芹, 江晓泉, 等. 基于 AQbD 的培植牛黄中 18 种氨基酸含量测定方法的建立与优化[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(7): 927–933.
- [14] 徐昕怡, 贺浪冲, 张启明, 等. 《中国药典》2025 年版理化分析通用技术要求编制大纲简介[J]. *中国药品标准*, 2023, 24(4): 331–336.
- [15] HAN F, YANG YK, BAI ZH, *et al.* Unique liquid chromatography technique for determining a new selective PPAR α modulator drug (pemaifibrate) in the tablet dosage form, robustness by design expert in the light of quality by design[J]. *Biomed Chromatogr*, 2025, 39(3): e70006.
- [16] SURAPURAJU PKR, JUTURU RR. Development and validation of stability-indicating-HPLC method for the determination of related substances in novel nitroimidazole antituberculosis drug pretomanid; Robustness study by Design-Expert and application to stability studies[J]. *Biomed Chromatogr*, 2022, 36(12): e5498.
- [17] KOWTHARAPU LP, KATARI NK, SANDOVAL CA, *et al.* Green liquid chromatography method for the determination of related substances present in olopatadine HCl nasal spray formulation, robustness by design expert[J]. *J AOAC Int*, 2022, 105(5): 1247–1257.
- [18] FERREY L, RAIMBAULT A, RIVALS I, *et al.* UHPLC method for multiproduct pharmaceutical analysis by Quality-by-Design[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 148: 361–368.
- [19] LIN Q, KAHSAY G, DE WAAL T, *et al.* Improved liquid chromatographic method for quality control of spiramycin using superficially porous particles[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 149: 57–65.
- [20] SHARMA T, KHURANA RK, JAIN A, *et al.* Development of a validated liquid chromatographic method for quantification of sorafenib tosylate in the presence of stress-induced degradation products and in biological matrix employing analytical quality by design approach[J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(5): e4169.
- [21] 何燕琳, 夏颖, 黄朝瑜, 等. 恩格列净原料及片剂有关物质的检查方法[J]. *医药导报*, 2025, 44(1): 24–31.
- [22] 丁晓丽, 胡馨月, 孙悦, 等. 对甘精胰岛素有关物质分析用系统适用性试验的研究[J]. *中国药事*, 2024, 38(2): 175–183.

编辑:刘卓越/接受日期:2025-04-13