

現行藥品優良製造規範— 分析確效作業指導手冊

行政院衛生署
中華民國八十九年六月

壹、前言

本資料係參照ICH Q2A及Q2B之內容制訂而成，所包括之內容為針對分析方法予以確效時，需加以考量內容確效研究的特性項目或確效指標。當藥廠要申請藥品查驗登記時，此等特性項目應包含在送件資料內。在確效時所收集到的所有相關數據，以及在計算確效指標上所使用的計算公式，都必須列入查驗登記申請資料中，並加以適當討論。

除了在本資料所提示的研究方法外，藥廠尚可使用其他適當的研究方法進行分析方法確效。查驗登記之申請者有責任選擇最適合於其產品的確效方法與確效計劃方案。不過，藥廠應切知，分析方法之確效，其主要目的就是在於確認該方法確實能適合於其所期望達到之目的。生物製品與生物技術製品因具有錯綜複雜的特質，其分析方法可以採用異於本手冊所述的方法來確效。

在整個確效研究中所使用的對照用物質，必須具有證明其純度而且品質適當之文件資料；其所需之純度標準，依擬使用之目的而定。

在實際操作上，通常可利用試驗設計來同時探討若干種確效指標，如專一性、線性、範圍、準確度以及精密度等，以對分析方法之能力提供完整而全面的訊息。

貳、執行分析方法確效之類型

本資料內容係以四類最普遍的分析方法為主：

- 鑑別試驗。
- 雜質含量之定量試驗。
- 雜質之管制限度試驗。
- 在原料藥或成品之檢品中，有效(活性)成分或成品中的其他特定成分的定量試驗。

除此等之外，還有許多其他的分析方法，例如成品的溶離度試驗或藥物的粒徑分析，其分析方法確效未包括在本資料中。但其確效事宜與已在本文中所列舉者同等重要。

下列簡要敘述本手冊中所包括之試驗類型：

- 鑑別試驗：旨在確保在一檢品中之一標的分析物的鑑別。通常將檢品與對照標準品之性質(例如，光譜、層析特性、化學反應性等)加以比較

而達成之。

- 雜質試驗：可為一檢品中之雜質的定量試驗或含量之限度試驗。這兩類雜質試驗之目的是在於準確地反映出檢品的純度。定量試驗與限度試驗所要求的確效特性是不同的。

- 含量測定方法：係供量測一檢品中所含有的標的分析物。在本資料的背景中，含量測定為藥物中主要成分的定量性量測。對於成品，當對其所含之有效或其他特定的成分作含量測定時，也適用相似的確效特性。同樣的確效特性也適用於其他的分析方法(例如：溶離度試驗)中的含量測定。

對於有關分析方法的使用目的應予以充分瞭解，因為該目的與所需要評估的確效特性內容息息相關。通常必須加以考慮的代表性確效特性如下：

- 準確度
- 精密度
- * 可重複性
- * 中間精密度
- * 再現性
- 專一性
- 最低檢測濃度
- 最低定量濃度
- 線性
- 範圍

此等確效特性的定義在本手冊的術語與定義項中有詳細的說明。下表列舉在不同類型之分析方法的確效中，被認為最重要的確效特性。表中所列舉者應視為確效分析方法時之代表性內容，偶有例外時得依個案個別處理。另，表中並未將耐變性列出，但是在分析方法開發過程中，應加以適當考量。

在下列情況下，可能有必要執行再確效：

- 原料藥的合成方法有所改變
- 成品組成有所改變

• 分析方法有所改變

再確效的執行程度，依其改變的本質而定。其他某些改變也可能需要加以確效。

分析方法類型 特性	鑑別	雜質試驗		含量測定： 溶離度(僅測定含量部 份) 含量/效價
		定量	限度	
準確度	-	+	-	+
精密度	-	+	-	+
可重複性	-	+(1)	-	+(1)
中間精密度				
專一性 ⁽²⁾	+	+	+	+
最低檢測濃度	-	-	+	-
最低定量濃度	-	+	-	-
線性	-	+	-	+
範圍	-	+	-	+

注意： — 表示此特性不是屬於常態評估的。

+ 表示此特性是屬於常態評估的。

(1)如已執行再現性(見術語與定義)試驗，則不需要執行中間精密度試驗。

(2)分析方法如專一性不足，則應提出其他分析方法以供佐證。

(3)必要時須執行。

參、術語與定義

一、分析方法：

分析方法是指執行分析的方法過程，其中詳細敘述執行每一種分析試驗所需要的步驟。分析方法至少可包含下列項目：檢品、對照標準品與試劑製備液、器具設備的使用、檢量線的製作、計算公式的使用等。

二、專一性：

專一性是指當可能存在之成分存在時，能明確的評估標的分析物的能力。通常，這些成分包括雜質、分解物、基質等。

當分析方法欠缺專一性時，可以由其他的分析方法佐證。

本定義具下列涵義：

- 鑑別：用於確保一標的分析物的鑑定。
- 純度試驗：用於確保所執行的所有分析方法能準確的表現標的分析物的雜質含量，如相關物質試驗、重金屬、溶劑殘留量等。
- 含量測定(含量或效價)：提供精確的結果，以給予檢品中所含之標的分析物準確的陳述。

三、準確度：

分析方法的準確度是用來表現所檢測出來的值與一公認之真值或一公認之對照值間之接近程度。準確度有時被稱之為真實度。

四、精密度：

分析方法的精密度是用來表現從同一均質檢品多重取樣，在規定條件下所得到的一系列量測值之間之接近程度(分散程度)。精密度可用三個層次表現：可重複性、中間精密度及再現性。

研究精密度時，必須使用均質而實際的檢品 (Authentic Samples) 行之。不過，如果不可能取得均質的檢品，可改使用人工製備的檢品或檢品溶液來進行研究。

分析方法的精密度通常利用一系列之量測值的變異數、標準差或變異係數表示之。

(一) 可重複性：

可重複性是表示在短時間的區間內，用同樣的操作條件所得到的精密度。可重複性又稱為同次含量測定內之精密度。

(二) 中間精密度：

中間精密度是表示同一實驗室內的變異程度：如不同日、不同分析者、不同的設備等。

攪 (三) 再現性：

再現性是表示實驗室之間的精密度（實驗室間的共同性研究，通常適用於方法的標準化）。

五、最低檢測濃度：

分析方法的最低檢測濃度是指在使用該方法時，檢品中的標的分析物可被檢測出來的最低量，但未必能定量出標的分析物之正確值。

六、最低定量濃度：

分析方法的最低定量濃度是指在使用該方法時，檢品中的標的分析物可被定量測出的最低量，而且測定結果應具有適當的準確度與精密度。最低定量濃度是對存在於檢品基質中的低含量化合物之含量測定的一個參數，特別使用於雜質及/或分解產物的測定。

七、線性：

分析方法的線性是指在標的分析物的一定濃度（或含量）範圍內，由該方法分析檢品所得之試驗結果與標的分析物的濃度（或量）成正比的的能力。

八、範圍：

分析方法的範圍是指在使用該方法分析檢品中的標的分析物，以濃度（量）上限與下線之間距時，其分析結果具有適當的準確度、精密度及線性關係。

九、耐變性：

分析方法的耐變性是指該方法不受方法參數故意以小幅度變異所影響之能力的表現，為該方法在正常使用時之可靠性的指標。

肆、各項分析特性的說明及規定

一、專一性：

專一性的研究應該在進行鑑別試驗、雜質測定以及含量測定之確效時執行。用來確認專一性所要使用的試驗方法，與該分析方法擬使用的目的有關。

確認一種分析方法對某一特定的標的分析物具有專一性(能完全區別之)，並不一定能做到。在這種情況下，可併用兩種或兩種以上的分析方法，以便能達到所需要的區辨水準。

（一）鑑別

適當的鑑別試驗應能夠區辨可能存在於檢品中之結構密切相關的化合物。要確定一種方法是否具有區辨能力，可將該方法分別施用於含有標的分析物的檢品及不含有標的分析物的檢品，如果由前者得到陽性結果而由後者得到陰性結果，則該方法之鑑別能力乃得以確證。此外，該鑑別試驗應用於與原標的分析物之結構相似或密切有關的物質時，應不會得到陽性反應。選擇此等潛在的干擾物質時，必須以深入的科學判斷為基礎，來考量可能會發生的干擾。

(二) 含量測定與雜質試驗

對於層析法而言，必須使用代表性的層析圖來表現其專一性；圖譜中之各層析峰應標記成分名。使用其他分離技術時，也必須作類似的考量。在應用層析法時，關鍵性的層析峰應能解析分離達某一適當的程度。對於這種關鍵性的分離，可利用彼此先後緊靠沖溶出來的兩個成分之解析度來表現該方法之專一性。

在使用非專一性含量測定時，應使用其他分析方法來支持確認該分析方法的整體專一性。例如，採用滴定法做藥品原料放行用之含量測定時，可將該含量測定法與適當的雜質試驗法聯合併用。

含量測定與雜質試驗二者，其做法是相似的：

1. 當有雜質樣品可用時

具專一性的含量測定法應能區辨標的分析物與雜質及/或賦形劑。實務上，可取純標的分析物(原料藥或成品)加入適當量的雜質及/或賦形劑，再確認含量測定結果沒有受到這些添加物之影響(可與未加入雜質及/或賦形劑之檢品所得之結果比較)。

對於雜質試驗，可在原料藥或成品中加入適當量的雜質，再確認這些雜質與檢品中的其他成分均能一一分離，藉此達到證明區辨能力之目的。

2. 在沒有雜質樣品可用時

如果無法取得雜質或分解產物的標準品時，則可利用下列方式來表現專一性。將含有雜質或分解產物之檢品用另一種試驗方法來印證，後者為經確認為適當之方法，例如一藥典法或是其他經確效過的分析方法(與原方法不同之方法)。必要時，可將檢品以苛酷條件如光照、加熱、潮濕、酸與鹼水解及氧化處理，然後再分析。

• 對於含量測定，應比較上列兩種試驗之結果。

- 對於雜質試驗，應比較雜質的解析輪廓圖。

由層析峰純度試驗(例如利用偶極陣列檢測器[diode array]、質譜儀等)，可顯示標的分析物的層析峰是否由一種以上的成分所導致。

二、線性：

評估分析方法之線性關係時，應涵蓋該分析方法的適用濃度範圍為度。評估時可以直接將藥物依次稀釋(以標準品之儲備溶液行之)，及/或以成品之組成成分分別稱量再混成標的分析物含量不一之檢品，再利用擬測試之分析方法分析之，然後觀察分析結果是否呈線性。採用後一種方式探討時，可在分析方法之適用範圍或全域之研究中順便進行。

探討線性時，應以目測法評估被分析物之濃度或含量與分析所得之訊號之強弱是否可呈線性關係。如果可呈線性關係，則應再將試驗結果利用適當的統計學方法來評估，如利用最小平方法之回歸線。有時，為了要使含量測定結果與檢品濃度間呈現線性關係，得在線性回歸之前利用數學轉換技術作預處理。從回歸線所得到的數據，有助於線性程度的估測。

回歸線的相關係數、y軸截距、斜率與殘差平方和等應列入報告中；數據的作圖也應予以列入。此外，真實值與由回歸線所得之值之偏差程度分析，對於線性之評估也很有幫助。

有些分析方法如免疫分析法，經任何轉換處理，也不會呈現出線性。在這種情況下，分析所得之回應值必須與檢品中標的分析物的濃度之間有適當之函數關係。

要建立一線性關係，建議最少要用到五個濃度。如用其他的方法，則必須證明其適當性。

三、範圍：

分析方法的適用濃度"範圍"通常是衍自該方法之線性的研究，而且與該方法所擬應用的目的有關。在訂定的範圍內，該分析方法對於標的分析物的含量測定結果可呈現適當的線性、準確度及精密度。

分析方法應考量之最小適用範圍如下：

- 原料藥或成品的含量測定：通常為正常試驗濃度的80-120%。
- 含量均一度試驗：至少涵蓋試驗濃度之70-130%；有時得依劑型之特質(例如定量式吸入劑)，選擇較為寬廣之適當範圍。

- 溶離度試驗：在規定範圍的 $\pm 20\%$ ；例如對於一控釋劑型，如果其溶離度規格涵蓋範圍為1小時後的20%到24小時後的90%，則其確效範圍為規格值的0-110%。

- 雜質測定：從雜質之應報告量（註）[\[1\]\[pitdc1\]](#) 至其規格值的120%。

對已知為異常毒劇的雜質或是會產生毒性或非預期性藥理反應的雜質，其最低檢測及定量濃度必須與該雜質（註）應管制的量相當。

對於在分析方法開發期間所實施的雜質試驗方法的確效，有時可能有必要於某一限度之上下處，探討檢測或最低定量濃度範圍。

- 如果將含量測定與純度試驗於一個試驗中一併執行，並且只使用一100%的標準品，則其線性範圍應涵蓋雜質之應報告量至含量測定規格值之120%。

四、準確度：

分析方法之準確度必須能適用於該分析方法之適用濃度範圍。

（一）含量測定

1. 原料藥

有若干種方法可用於測定準確度：

攪(1)將分析方法應用於已知純度的標的分析物(例如對照品)。

攪(2)分別以探討中的分析方法與以另一種已具備或界定有準確度的分析方法分別作測定，將所得的分析結果予以比較(參閱肆、一、(二))。

攪(3)當精密度、線性及專一性都已確立後，據而推論準確度。

2. 成品

有若干種方法可用於測定準確度：

(1)將所要分析之已知量藥品加到製品的組成物中，製成組合的混合物，再將此分析方法應用於此混合物。

攪(2)如果不可能取得全部製劑組成成分，可將已知量的標的分析物加至成品之中再分析比較，或用另一種已具備或界定有適當性能的分析方法來分析，然後比較結果。

攪(3)當精密度、線性及專一性都已確立後，據而推論準確度。

（二）雜質(定量試驗)

評估準確度時，應以在一檢品(原料/成品)中加入已知量之雜質為準。

在不可能取得某些雜質及/或分解物之樣品時，可用其他方法(參閱肆、一、(二))所得的結果分析比較；原料藥的回應因子(response factor)可供使用。

個別雜質或總雜質與主要標的分析物之間的關係，如重量比率或面積百分率等，其決定方法應明確。

(三) 數據之提報

研判分析方法之準確度時，應以能涵蓋適用濃度範圍全域之濃度三個或三個以上，須至少有九個測定值(如3個濃度各重複3次)。

作準確度報告時，應以加入於檢品中之已知量之標的分析物之回收百分率值為準；也可用測定值之平均值與真值間之差值，再伴以一信賴區間值。

五、精密度：

含量測定法及雜質含量測定時之確效事宜，尚包括精密度之研究。

(一) 可重複性

可重複性之決定，應以下列之一條件加以評估：

- 1.應以能涵蓋適用濃度範圍全域之濃度三個或三個以上，須至少有九個測定值(如3個濃度各重複3次)。
- 2.在正常操作濃度之100%處，至少作6個測定值。

(二) 中間精密度

分析方法之中間精密度之標準，依該方法所擬使用的目的而定。研究中間精密度時，應建立隨機條件對分析方法之精密度的影響。常用的隨機變因有分析日期、分析人員、分析設備等。研究時，不須對這些變因個別一一的研究，宜利用試驗設計方法來進行之。

(三) 再現性

分析方法之再現性是以不同實驗室執行該方法，所得之結果來評估的。當要將分析方法予以標準化時，例如將分析方法納入藥典時，應考量該方法之再現性。有關再現性之數據並不是批准一藥品上市所必要的文件。

(四) 數據之提報

對於所研究之各種類型的精密度，應提報其標準差、相對標準差（變異係數）與信賴區間值。

六、最低檢測濃度：

要決定分析方法之最低檢測濃度，可以用幾種不同的方法來處理。依其分析方法是儀器性或非儀器性而定。除了下列方法以外，也可以採用其他的做法。

（一）以目視評估法為基礎

目視評估法可以用在非儀器分析法上，但也可以使用於儀器分析法中。決定最低檢測濃度時，取已知標的分析物濃度的檢品分析，建立標的分析物能被可靠的檢測出時之最低濃度。

（二）以訊號雜訊比為基礎

這種做法只能適用於顯現有基線雜訊的分析方法上。

訊號雜訊比之決定係分別測定空白檢品與若干含有已知量標的分析物之低濃度檢品，再以標的分析物能被可靠的檢測出來的濃度作為最低檢測濃度。通常以訊號雜訊比為3:1或2:1時之濃度，作為最低檢測濃度值之估計值。

（三）以回應值的標準差與斜率為基礎

最低檢測濃度(DL)可以用下式表示：

$$DL = 3.3\sigma/S \text{ (式1)}$$

式中 σ 為回應值的標準差，S為檢量線之斜率。

斜率S可以從標的分析物的檢量線求得。 σ 的值可由下列幾種方法求得。

1.以空白試驗的回應值標準差為基礎

分析時，量測適當數目的空白檢品之背景回應，再計算此等回應的標準差。

2.以檢量線為準

用於此種研究之檢量線，應利用標的分析物濃度在DL範圍內之已知濃度檢品溶液行之。線性回歸所得之直線之殘餘標準差或回歸線在y-軸之截距的標準差，可當作式1中之標準差值。

（四）數據之提報

最低檢測濃度與用來測定最低檢測濃度所使用的方法，應列入報告之中。如果DL係依據目視法或訊號雜訊比法求得，則附相關層析圖作為合理解釋應可考慮被接受。

當最低檢測濃度的估計值是由計算法或外插法求得時，可隨後再配製若干接近最低檢測濃度或在最低檢測濃度處之已知濃度檢品並分析之，以此確效DL值之合理性。

七、最低定量濃度：

要決定分析方法之最低定量濃度，可以用幾種不同的方法來處理。依其分析方法是儀器性或非儀器性而定。除了下列方法以外，也可以採用其他的做法。

(一) 以目視評估法為基礎

目視評估法可以用在非儀器分析法上，但也可以使用於儀器分析法中。決定最低定量濃度時，取已知標的分析物濃度的檢品分析，建立對標的分析物作定量分析時，能有適當準確度與精密度之最低濃度。

(二) 以訊號雜訊比為基礎

這種做法只能適用於顯現有基線雜訊的分析方法上。

要決定訊號雜訊比時，分別測定空白檢品與若干含有已知量標的分析物之低濃度檢品，再以標的分析物能被可靠的檢測出來的濃度作為最低定量濃度。通常以訊號雜訊比為10:1時之濃度作為最低定量濃度值之估計值。

(三) 以回應值的標準差與斜率為基礎

最低定量濃度(QL)可以用下式表示：

$$QL = 10\sigma/S \text{ (式2)}$$

式中 σ 為回應值的標準差，S為檢量線之斜率。

斜率S可以從標的分析物的檢量線求得。 σ 的值可由下列幾種方法求得。

1. 利用空白試驗之回應值之標準差

分析時，量測適當數目的空白檢品之背景回應值，再計算此等回應值的標準差。

2. 以檢量線為準

用於此種研究之檢量線，應利用標的分析物濃度在QL範圍內之已知濃度檢品溶液行之。線性回歸所得之直線之殘差標準差或回歸線在y-軸之截距的標準差，可當作式2中之標準差值。

(四) 數據之提報

最低定量濃度與用來測定最低定量濃度所使用的方法，應列入報告之中。

得到最低定量濃度的估計值後，應隨後配製若干接近最低定量濃度或在最低定量濃度處之已知濃度檢品並分析之，以此確效QL值之合理性。

八、耐變性：

在分析方法之開發階段中，應考慮是否要評估該方法之耐變性，評估內容則與方法本身的類型有關。分析方法之耐變性必須能顯示出方法參數有變異時，分析結果仍具可靠性。

如果分析條件有變異而量測結果容易受到影響時，則分析條件必須加以適當的控制，或者將注意事項列入分析方法的陳述中。對於分析方法之耐變性評估，所造成的必然結果乃是建立一系列有關該方法的系統適用性參數(如：解析度試驗)，以確保在每次使用該方法時，都能維持其有效性。

有關變異的常見實例有：

- 分析用溶液的安定性。
- 抽取所用的時間。

在液相層析法上，有關變異的常見實例有：

- 在移動相中pH變化所造成的影響。
- 在移動相組成的變異所造成的影響。
- 不同的管柱(不同批號及/或供應者)。
- 溫度。
- 流速。

在氣相層析法上，有關變異的常見實例有：

- 不同的管柱(不同批號及/或供應者)
- 溫度

• 流速

九、系統適用性：

系統適用性試驗是許多分析方法的一個不可或缺的部份。此等試驗之觀念基礎為分析用之設備、電子工學事宜、分析操作以及供分析的檢品等，共同構成分析系統之整體。評估時，以此作整體評估。對於一個特定的方法，所須之系統適用性試驗之參數，與所要確效之方法的類型有關。進一步的資料請參見有關之藥典。

中英名詞對照

中間精密度 Intermediate precision

可重複性 Repeatability

再現性 Reproducibility

回應 Response

成品 Drug product

含量均一度試驗 Content uniformity

含量測定 Assay

系統適用性 System suitability

最低定量濃度 Quantitation limit

耐變性 Robustness

原料藥 Drug substance

訊號雜訊比 Signal to noise ratio

參數 Parameter

專一性 Specificity

最低定量濃度 Limit of quantitation, minimum level of quantitation

溶離度試驗 Dissolution

準確度 Accuracy

解析度試驗 Resolution test

線性 Linearity

精密度 Precision

標的分析物 Analyte

標準化 Standardization

範圍 Range

線性回歸 Linear regression

最低檢測濃度 Detection limit

檢量線 Calibration curve

雜質 Impurity

雜質定量分析 Impurity quantitation

雜質測定 Determination of impurity

鑑別 Identification

英中名詞對照

Accuracy 準確度

Analyte 標的分析物

Assay 含量測定

Calibration curve 檢量線

Content uniformity 含量均一度試驗

Detection limit 最低檢測濃度

Determination of impurity 雜質測定

Dissolution 溶離度試驗

Drug product 成品

Drug substance 原料藥

Identification 鑑別

Impurity 雜質

Impurity quantitation 雜質定量分析

Intermediate precision 中間精密度

Limit of quantitation, minimum level of quantitation 最低定量濃度

Linear regression 線性回歸

Linearity 線性

Parameter 參數

Precision 精密度

Quantitation limit 最低定量濃度

Range 範圍

Repeatability 可重複性

Reproducibility 再現性

Resolution test 解析度試驗

Response 回應

Robustness 耐變性

Signal to noise ratio 訊號雜訊比

Specificity 專一性

Standardization 標準化

System suitability 系統適用性

[1] 註：參閱"Impurities in New Drug Substances" 及"Impurities in New Drug Products"等ICH-Guidelines中之"Reporting Impurity Content of Batches"項。

[pitdc1]註：參閱"Impurities in New Drug Substances" 及"Impurities in New Drug Products"等ICH-Guidelines中之"Reporting Impurity Content of Batches"項。

