

의약품등 시험방법 밸리데이션 가이드라인

2015. 12.

이 가이드라인은 의약품 등 시험방법 밸리데이션에 대한 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것으로, 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아님

※ 가이드라인이란 대외적으로 특정한 사안 등에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것임(식품의약품안전처 지침등의 관리에 관한 규정(식약처 예규))

※ 본 가이드라인에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 의약품심사부 의약품규격과에 문의하시기 바랍니다.

전화 : 043-719-2961

팩스 : 043-719-2950

목 차

I. 목 적	1
II. 서 론	1
III. 용어 정의	
1. 분석법(Analytical Procedure)	2
2. 특이성(Specificity)	2
3. 정확성(Accuracy)	2
4. 정밀성(Precision)	2
5. 검출한계(Detection limit)	3
6. 정량한계(Quantitation limit)	3
7. 직선성(Linearity)	4
8. 범위(Range)	4
9. 완건성(Robustness)	4
IV. 분석법 밸리데이션의 실시	
1. 특이성(Specificity)	5
가. 확인시험	5
나. 정량시험과 순도시험	5
2. 직선성(Linearity)	7
3. 범위(Range)	8
가. 원료약품 또는 제제의 정량시험	8
나. 함량균일성시험	8
다. 용출시험	8
라. 유연물질의 정량시험	8
4. 정확성(Accuracy)	9

가. 정량시험	9
나. 유연물질의 정량시험	10
다. 제출자료	10
5. 정밀성(Precision)	11
가. 반복성(병행정밀성, Repeatability)	11
나. 실험실내 정밀성(Intermediate precision)	11
다. 실험실간 정밀성(재현성, Reproducibility)	11
라. 제출자료	11
6. 검출한계(Detection limit)	12
가. 시각적 평가에 의한 방법	12
나. 신호 대 잡음비에 근거하는 방법	12
다. 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 방법	12
라. 제출자료	13
7. 정량한계(Quantitation limit)	13
가. 시각적 평가에 의한 방법	14
나. 신호 대 잡음비에 근거하는 방법	14
다. 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 의한 방법	14
라. 제출자료	15
8. 완건성(Robustness)	15
가. 여러 가지의 시험방법에 공통되는 변동인자	15
나. 액체크로마토그래프법의 대표적인 변동인자	15
다. 기체크로마토그래프법의 대표적인 변동인자	16
9. 시스템적합성 시험(System suitability testing)	16
별표1. 시험방법에 따라 검토해야 할 밸리테이션 파라미터	17

I. 목적

이 지침은 식품의약품안전청고시 「의약품의 품목허가·신고·심사 규정」 등 의약품·의약외품의 제조·수입품목허가(신고)신청 및 품질관리를 위하여 필요한 시험방법에 대한 밸리데이션 실시방법을 구체적으로 제시함을 목적으로 한다

II. 서론

의약품등의 시험방법에 대한 밸리데이션을 실시하는 목적은 의약품등의 품질관리시험에 이용하는 시험방법이 의도한 목적에 적합한 시험방법임을 증명하는 것이다.

이 지침에서는 각각의 시험방법에 관한 밸리데이션 파라미터를 설정하는 방법을 제시하고자 한다. 이 지침에 제시된 밸리데이션이 적용되는 시험방법의 범위는 다음과 같다.

- 1) 의약품 등의 원료 규격에 설정된 확인시험
- 2) 순도시험: 불순물의 정량시험 및 한도시험
- 3) 정량시험: 원료 또는 제품 중 유효성분, 제품 중 기타 특정 성분의 정량시험, 제제 균일성시험, 용출시험중 분석법

평가되어야 할 밸리데이션 파라미터는 시험방법의 목적에 따라 결정되므로 시험방법의 목적이 명확하여야 한다. 밸리데이션 파라미터로는 특이성, 정확성, 정밀성, 검출한계, 정량한계, 직선성, 범위 및 완전성이 있고 각 시험방법의 목적에 맞는 밸리데이션 파라미터를 선정하여 평가한다.

한편, 원료약품의 제조방법, 제제의 조성 및 시험방법이 변경되는 경우에는 재밸리데이션을 하는데, 변경되는 사항 및 정도에 따라 재밸리데이션 정도가 달라진다.

또한 이 지침에 규정하는 방법이 아닌 다른 밸리데이션 방법을 사용할 수도 있으나 시험방법의 목적에 적절한 방법임을 입증하여야 한다.

III. 용어 정의

1. 시험방법(Analytical Procedure)

분석을 하기 위해 필요한 상세히 기술된 일련의 시험 과정을 말한다. 확인시험, 순도 시험, 정량시험 등에 사용된 분석대상물질, 검체, 표준품, 시약 및 시액, 분석 장비의 사용, 검량선 작성, 계산식의 이용 등을 포함한다.

- 시험방법 밸리데이션(Validation of Analytical Procedure)이란 의약품등의 품질관리를 위한 시험방법의 타당성을 미리 확인하는 과정을 말한다.
- 확인시험(Identification Test)이란 검체 중 분석대상 물질을 확인하는 시험을 말하며, 일반적으로 검체의 물리화학적 특성(스펙트럼, 크로마토그래프법에서 얻어지는 정보, 화학적 반응성 등)을 표준품의 특성과 비교하는 방법을 이용한다.
- 순도시험(Purity Test)이란 검체 중 유연물질, 중금속, 잔류용매 등 불순물의 존재 정도를 정확하게 측정하는 시험을 말하며 정량시험과 한도시험이 있다.
- 함량 또는 역가시험(Assay: Content or Potency)이란 검체 중에 존재하는 분석대상물질의 양 또는 역가를 정확하게 측정하는 시험을 말한다. 즉, 원료 또는제제 중의 주요성분(주성분, 유효성분, 생리활성성분)이나 특정 성분(예: 안정제 또는 보존제 등 첨가제)의 함량을 측정한다. 용출시험 중의 정량 분석과정도 포함된다.

2. 특이성 (Specificity)

특이성(Specificity)이란 불순물, 분해물, 배합성분 등의 혼재 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 말한다. 시험방법의 특이성이 부족할 경우 다른 보조적인 시험방법으로 보완될 수 있다.

3. 정확성(Accuracy)

정확성(Accuracy)이란 측정값이 이미 알고 있는 참값이나 표준값에 근접한 정도를 말한다

4. 정밀성(Precision)

정밀성(Precision)이란 균일한 검체로부터 여러 번 채취하여 얻은 검체를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 사이의 근접성(분산정도)을 말한다. 정밀성은 반복성(병행정밀성), 실험실내 정밀성 및 실험실간 정밀성의 세가지로 검토될수 있다.

- 반복성(병행정밀성, Repeatability)이란 동일 실험실내에서 동일한 시험자가 동일한 장치와 기구, 동일제조번호와 시약, 기타 동일 조작 조건하에서 균일한 검체로부터 얻은 복수의 검체를 짧은 시간차로 반복분석 실험하여 얻은 측정값들 사이의 근접성을 말한다. Intra-assay precision이라고도 한다.
- 실험실내 정밀성(Intermediate Precision)이란 동일 실험실내에서 다른 실험일, 다른 시험자, 다른 기구 또는 장비 등을 이용하여 분석 실험하여 얻은 측정값들 사이의 근접성을 말한다.
- 실험실간 정밀성(Reproducibility)이란 일반적으로 표준화된 시험방법을 사용한 공동 연구에 적용되는데, 서로 다른 실험실에서 하나의 동일한 검체로부터 얻은 측정값들 사이의 근접성을 말한다.

5. 검출한계(Detection Limit)

검출한계(Detection Limit)란 검체 중에 존재하는 분석대상물질의 검출 가능한 최소량을 말하며, 반드시 정량가능할 필요는 없다.

6. 정량한계(Quantitation Limit)

정량한계(Quantitation Limit)란 적절한 정밀성과 정확성을 가진 정량값으로 표현할 수

있는 검체 중 분석대상물질의 최소량을 말한다. 분석대상물질을 미량으로 함유하는 검체의 정량시험이나 특히 불순물, 분해생성물 결정에 사용되는 정량시험의 밸리데이션 파라미터이다.

7. 직선성(Linearity)

시험방법의 직선성(Linearity)이란 검체 중 분석대상물질의 양(또는 농도)에 비례하여 일정 범위 내에 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력을 말한다.

8. 범위(Range)

범위(Range)란 적절한 정밀성, 정확성 및 직선성을 충분히 제시할 수 있는 검체 중 분석대상물질 양(또는 농도)의 하한 및 상한값 사이의 영역을 말한다

9. 완건성(Robustness)

시험방법의 완건성(Robustness)이란 시험방법의 조건이 일부 의도적으로 변경되었을 때 측정값이 영향을 받지 않는지에 대한 척도를 말한다. 시험방법이 통상 사용되는 동안 그 시험방법을 얼마나 신뢰할 수 있는 지에 대한 지표이다.

IV. 분석법 밸리데이션의 실시

시험방법 밸리데이션을 위해서는 우선 시험방법의 적정성에 관한 종합적이고 신뢰성 있는 실험계획을 수립하고 밸리데이션 과정에서 얻어진 모든 데이터 및 밸리데이션 파라미터를 이용하여 그 적정성 여부를 평가한다. 밸리데이션의 과정에서 얻어진 모든 관련 데이터 및 밸리데이션 파라미터를 산출하기 위해 사용된 계산공식이 제출되어야 하며 적절히 설명되어야 한다. 확인시험, 순도시험, 정량시험 등의 시험방법별로 설정되어야 할 밸리데이션 파라미터는 별표1과 같다.

밸리데이션 수행 시에 사용하는 표준품은 순도를 포함하여 물리 화학 생물학적 특성이

명확히 설명되어야 한다. 어느 정도 수준의 순도를 가진 표준품이 요구되는지는 시험 방법의 사용목적에 따른다.

1. 특이성(Specificity)

확인시험, 순도시험 및 정량시험의 밸리데이션에서는 특이성이 평가되어야 한다. 특이성을 입증하기 위한 방법은 시험방법이 적용되는 목적에 따라 다르다.

어떤 시험방법이 특정의 분석대상물질에 대해서 특이적이고, 완벽하게 구별할수 있는 방법임을 입증하는 것이 항상 가능하지는 않다.

이러한 경우에는 분석대상물질을 충분히 구별하기 위해 두 개 혹은 그 이상의 시험방법을 조합하는 것이 권장된다

가. 확인시험(Identification)

확인시험은 구조적으로 유사한 화합물들이 공존시 이를 식별할 수 있는 방법이어야 한다. 시험방법의 식별 능력은 분석대상물질을 함유한 검체에서 기존의 표준물질과 비교시 양성의 시험결과를 얻고, 분석대상물질을 포함하지 않은 검체에서는 음성의 시험결과를 얻음으로써 확인할 수 있다. 추가적으로 분석대상물질과 구조적으로 유사한 물질 또는 분석대상물질과 밀접한 관련성이 있는 물질에 확인시험을 적용하여 양성의 반응을 얻을 수 없다는 것을 확인해도 된다. 특이성 검토 시 시험방법을 실시하는데 있어서 일어날 수 있는 간섭을 과학적으로 판단하여, 위와 같이 간섭을 일으킬 수 있는 물질을 선택하여야 한다.

나. 정량시험과 순도시험

크로마토그래프법에서는 특이성을 입증하기 위해 대표성 있는 크로마토그램을 제시하여야 하며 개개의 성분들이 크로마토그램에 적절하게 표시되어야 한다. 이는 다른 분리 분석법의 경우에서도 마찬가지이다.

크로마토그래프법에서는 성분이 서로 분리되고 있음을 나타내는 분리한계(Critical Separation)가 평가되어야 한다. 특이성을 나타내기 위해서 서로 가장 근접하게 용리하는 2개 성분의 분리도를 이용하여 분리한계를 나타낼 수 있다.

비특이적인 정량시험(non-specific assay)이 사용될 때는 별도의 보조적 시험방법을 사용하여 종합적으로 특이성을 증명 할 수 있다. 예를 들면, 원료의약품의 출하시험으로 실시하는 정량시험에 적정법(titration)이 적용되는 경우에는 그 정량시험에 적당한 순도시험을 실시하여 검토함으로써 특이성을 증명할 수 있다.

이러한 방법은 정량시험과 순도시험에 동일하게 적용 할 수 있다.

1) 유연물질 표준품 보유 시

유연물질 또는 첨가제가 있는 상황에서 정량시험은 분석대상물질에 특이적이어야 한다. 실제로 원료의약품 또는 제제에 적당한 농도의 유연물질이나 첨가제를 첨가했을 때의 정량 시험결과가 이러한 물질이 첨가되지 않을 때의 시험결과와 비교하여 영향을 받지 않는다는 것을 보여줌으로써 특이성을 입증할 수 있다.

순도시험에서는 원료의약품 또는 제제에 적당한 농도의 유연물질을 첨가하여 이들 유연물질이 서로 분리되거나 유연물질이 검체 중에 존재하는 다른 성분으로부터 분리되는 것을 제시함으로써 특이성을 입증할 수 있다.

2) 유연물질 표준품 미보유시

유연물질의 표준품을 확보할 수 없는 경우에는 유연물질을 포함한 검체에 대하여 밸리데이션 하고자 하는 시험방법으로 측정된 결과와 이미 입증된 다른 시험방법으로 측정된 결과를 비교함으로써 특이성을 입증할 수 있다. 여기서 이미 입증된 다른 시험방법의 예로는, 약전에 기재된 방법 또는 다른 밸리데이션된 시험방법이 있다. 필요에 따라서, 유연물질 발생이 가능한 가혹조건(빛, 열, 습도, 산 또는 염기 가수분해 및 산화)에 노출된 검체를 이용할 수도 있다.

- 정량시험에서는 2개의 정량 시험결과를 비교한다.
- 순도시험에서는 유연물질 프로파일을 비교한다.

크로마토그램상의 분석대상물질의 피크가 다른 성분들로부터 유래하지 않는다는 것을 입증하기 위해서는 다이오드 어레이(Diode array)나 질량분석기(MS) 등을 검출기로 이용하는 피크순도시험이 유용하다.

2. 직선성(Linearity)

시험방법에서 정하는 모든 범위(3. 범위 참조)에 대해 직선성을 확인하여야 한다. 표준 원액을 희석하는 방법으로 원료의약품에 대해 직접적으로 직선성을 증명할 수 있으며 제제 구성성분들을 개별 칭량하여 조제한 혼합물을 가지고 직선성을 증명할 수 있다. 두 번째 방법은 범위 설정시에 고려될 수 있다.

신호를 분석대상물질의 농도 또는 함량에 대한 함수로 그래프를 작성하여 시각적으로 평가하여야 한다. 직선성이 확인되는 경우, 최소자승법에 의한 회귀 직선의 계산과 같은 통계학적 방법을 이용해 측정 결과를 평가한다. 분석 실측치와 검체농도의 직선성을 얻기 위해서 필요시 회귀분석을 하기 전에 측정데이터를 수학적으로 변환시킬 필요가 있을 수 있다.

회귀직선으로부터 얻을 수 있는 정보는 직선성의 정도를 수학적으로 평가할 때 도움이 된다.

상관계수(correlation coefficient), y -절편, 회귀직선의 기울기 및 잔차제곱의 합(residual sum of square) 등의 결과도 기재하여야 한다. 데이터에 대한 그래프도 작성하여 기재하여야 한다. 실측치와 회귀직선상의 예측치와의 차이를 분석하는 것도 직선성을 평가하는데 있어서 도움이 된다.

면역측정법(Immunoassay)과 같이 어떤 시험방법은 수학적 변환을 하여도 직선성이 나타나지 않는다. 이러한 경우, 분석결과는 검체 중의 분석대상물질의 농도(또는 함량)에

대하여 적절한 함수(이론식 또는 근사식)로 표현한다.

직선성을 입증하기 위해서는 적어도 다섯 개 농도의 검체를 사용한다. 그렇지 않은 경우 그 방법의 타당성에 대한 근거를 제시하여야 한다.

3. 범위(Range)

일반적으로 범위(Range)는 직선성 평가 시 결정되고, 시험방법이 적용되는 목적에 따라 달라질 수 있다. 규정하는 범위 내 또는 그 범위의 하한 및 상한 농도를 포함한 검체를 이용하여 시험방법의 직선성, 정확성 및 정밀성을 확인함으로써 범위의 타당성을 입증한다.

최소로 규정하는 범위는 다음과 같다.

가. 원료의약품 또는 제제의 정량시험

- 일반적으로 시험농도의 80 ~ 120%.

나. 제제균일성시험

- 정량분무흡입제(metered dose inhalers)등과 같이 제형의 특성에 근거하여 더 넓은 범위를 규정하여야 하는 경우를 제외하고는, 적어도 시험농도의 70 ~ 130%.

다. 용출시험

- 제제의 기준 및 시험방법 중 설정된 용출시험기준 범위의 $\pm 20\%$.
- 예를 들어, 방출제어제제의 규격이 1시간 후에 20%, 24시간 후에 90%라고 규정되어 있다면 밸리데이션해야 할 범위는 표시량의 0 ~ 110%이다.

라. 유연물질의 정량시험

- 해당 유연물질의 보고수준부터 설정된 기준의 120% 까지

마. 활성이 특히 강하거나 독성 및 예기치 못한 약리 작용을 나타내는 것으로 알려진 유연물질의 검출/정량한계는 그 유연물질이 관리되어야 할 한도를 고려하여 설정되어야 한다. 의약품등의 개발 단계에서 행해지는 순도시험에 이용되는 시험방법을 밸리데이션하는 경우, 예측되는 유연물질의 한도치 근처를 범위로 하여 평가하는 것이 좋다.

바. 유효성분의 정량법과 순도시험이 하나의 시험으로 동시에 행해져 유효성분 표시량의 100%를 함유한 검체만 사용되는 경우, 해당 유연물질의 보고수준부터 합량 시험 기준의 120% 까지 직선성이 평가되어야 한다.

4. 정확성(Accuracy)

정확성은 시험방법이 규정하는 모든 범위에서 입증되어야 한다.

가. 정량시험

(1) 원료의약품

정확성을 결정하기 위해서 다음과 같은 몇 가지의 방법을 이용할 수 있다.

(가) 참값을 알고 있는 경우

순도를 이미 알고 있는 검체(예를 들면, 표준품)에 대해서 밸리데이션하려는 시험방법을 적용한다

(나) 정확성이 알려진 기존의 시험방법이 존재하는 경우

밸리데이션하려는 시험방법에 의한 시험결과와 정확성이 알려진 기존의 시험방법에 의한 시험결과를 비교한다.

(다) 정밀성, 직선성 및 특이성이 입증되면, 이로부터 정확성을 추론할 수 있다.

(2) 제제

정확성을 평가하기 위하여 다음과 같은 몇 가지의 방법을 이용할 수 있다.

- (가) 제제성분의 혼합물에 분석하는 원료약품의 기지량을 첨가하고 이것을 검체로 하여 밸리데이션하려 하는 시험방법을 적용한다.
- (나) 확보 불가능한 제제성분이 있는 경우에는 다음의 어느 방법을 이용해도 좋다.
- 1) 제제에 기지량의 분석대상물질을 첨가하는방법
 - 2) 제제를 밸리데이션하려 하는 시험방법으로 측정한 결과와 정확성이 알려진 기존의 시험방법으로 측정한 결과를 비교하는 방법
- (다) 정밀성, 직선성 및 특이성이 입증되면, 이로부터 정확성을 추론할 수 있다.

나. 유연물질의 정량시험

정확성은 기지량의 유연물질을 첨가한 원료약품 또는 제제 등의 검체를 정량함으로써 평가한다.

특정 불순물 또는 분해생성물을 확보하는 것이 불가능한 경우에는 밸리데이션하려 하는 시험방법에 의한 시험결과를 정확성이 알려진 기존의 시험방법에 의한 시험결과와 비교해도 된다. 원료의약품의 반응계수(response factor)를 이용할 수도 있다.

모든 경우 주요 분석대상물질에 대하여 중량백분을 혹은 면적백분을 등 개개의 유연물질 양 또는 유연물질 총량의 결정방법을 명확히 기재하여야 한다.

다. 제출자료

정확성은 규정된 범위를 포함하여 최소한 3 농도에 대해서 시험방법의 전 조작을 적어도 9회 반복 측정(예를 들면, 3 농도에 대해서 각 농도당 3회씩 반복 측정)한 결과로부터 평가한다.

정확성은 기지량의 분석대상물질을 첨가한 검체를 정량하는 경우에는 회수율(%)로서 나타내고, 참값과 비교하는 경우에는 평균값과 참값으로 인증된 값과의 차이를 신뢰구간과 함께 기재한다.

5. 정밀성(Precision)

함량시험 및 유연물질의 정량시험을 밸리데이션할 때 정밀성 평가가 포함된다.

가. 반복성(병행정밀성, Repeatability)

반복성은 다음과 같은 방법으로 평가할 수 있다.

- (1) 규정된 범위를 포함한 농도에 대해 적어도 9회 반복하여 측정한다.(예를 들면, 3농도에 대해서 시험방법의 전 조작을 각 농도 3회씩 반복 측정한다.)
- (2) 시험농도의 100 %에 해당하는 농도로 시험방법의 전 조작을 적어도 6회 반복 측정한다.

나. 실험실내 정밀성(Intermediate precision)

실험실내 정밀성의 평가범위는 시험방법이 사용되는 상황에 따라 정해지~~지~~며 정밀성에 미치는 여러 가지 요인에 대한 영향을 확인할 필요가 있다. 평가가 필요한 대표적인 변동요인은 실험일, 시험자, 시험장비 등이다. 이러한 요인들 각각에 대해 개별적으로 시험을 실시할 필요는 없다.

다. 실험실간 정밀성(재현성, Reproducibility)

재현성은 실험실간 시험(inter-laboratory trial)에 의해 평가된다. 약전에 시험방법을 수재하는 등 시험방법을 표준화할 필요가 있을 경우에는 재현성의 평가가 필요하다. 실험실간 정밀성 자료는 허가시 제출자료에 포함되지 않는다.

라. 제출자료

각각의 정밀성 평가 자료마다 표준편차, 상대표준편차(변동 계수)및 신뢰구간을 기재한다.

6. 검출한계(Detection limit)

시험방법이 기기분석인지 아닌지에 따라 검출한계를 구하기 위한 여러 가지 방법들이 사용 가능하다. 따라서 다음에 제시하는 방법 이외의 다른 방법을 이용할 수도 있다.

가. 시각적 평가에 근거하는 방법

기기를 사용하지 않는 시험방법 뿐 아니라 기기 분석법에 대해서도 시각적으로 평가할 수 있다.

검출한계는 기지량의 분석대상물질을 함유한 검체를 분석하고 그 분석대상물질을 확실하게 검출할 수 있는 최저의 농도를 확인함으로써 결정된다.

나. 신호 대 잡음(signal-to-noise)에 근거하는 방법

이 방법은 바탕선에 잡음이 있는 경우의 시험방법에 적용한다. 기지의 저농도 분석대상물질을 함유하는 검체와 공시험 검체의 신호를 비교하여 설정함으로써 신호 대 잡음비를 구할 수 있다. 검출한계를 산출하는데 있어, 신호대 잡음비는 일반적으로 3:1 혹은 2:1이 적당하다.

다. 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 방법

검출한계(DL)를 다음 식에 의해 결정할 수 있다.

$$DL = 3.3 * \sigma / S$$

여기서 σ 는 반응의 표준편차를, S는 검량선의 기울기를 말한다.

기울기 S는 분석대상물질의 검량선으로부터 구할 수 있다. 표준편차 σ 를 구하는 방법은 다음과 같은 여러 가지 방법이 있다.

(1) 공시험 검체의 표준편차에 근거하는 방법

적당한 수의 공시험 검체를 분석하여 이 측정값의 표준편차를 계산함으로써 시험 방법의 기본(background) 반응 정도를 측정한다.

(2) 검량선에 근거하는 방법

검량선은 정량한계에 근접한 분석대상물질을 함유하는 검체를 가지고 작성되어야 한다. 회귀직선에서 잔차의 표준편차(residual standard deviation) 또는 회귀직선(regression line)에서 y 절편의 표준편차를 표준편차 σ 로서 이용할 수 있다.

라. 제출자료

검출한계와 함께 검출한계를 구할 때 사용한 방법을 기재하여야 한다. 시각적 평가 또는 신호 대 잡음비에 의해 검출한계를 결정할 경우에는 그 타당성을 입증할 수 있는 크로마토그램을 제출한다.

계산(calculation) 또는 외삽(extrapolation)에 의해 검출한계를 산출하였을 경우에는 검출한계 농도 혹은 그 부근 농도로 조제한 적당한 수의 검체에 대한 분석을 실시하여 제출값의 타당성을 입증한다.

7. 정량한계(Quantitation limit)

시험방법이 기기분석인지 아닌지에 따라 정량한계를 구하기 위한 여러 가지 방법들이 사용 가능하다. 따라서 다음에 제시하는 방법 이외의 다른 방법을 이용할 수도 있다.

가. 시각적 평가에 근거하는 방법

기기를 사용하지 않는 시험방법 뿐 아니라 기기 분석법에 대해서도 시각적으로 평가할 수 있다.

정량한계는 기지농도의 분석대상물질을 함유하는 검체를 분석하고, 정확성과 정밀성이 확보된 분석대상물질을 정량할 수 있는 최저농도를 설정하는 것이다.

나. 신호 대 잡음(signal-to-noise)에 근거하는 방법

이 방법은 바탕선에 잡음이 있는 시험방법에만 적용할 수 있다. 기지의 저농도 분석대상물질을 함유하는 검체와 공시험 검체의 신호를 비교하여 설정함으로써 신호 대 잡음비를 구할 수 있다. 검출한계를 산출하는데 있어, 신호대 잡음비는 일반적으로 10:1이 적당하다.

다. 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 방법

정량한계(QL)는 다음 식에 의해 결정할 수 있다.

$$QL = 10 * \sigma / S$$

여기서 σ 는 반응의 표준편차를, S는 검량선의 기울기를 말한다.

기울기 S는 분석대상물질의 검량선으로부터 구할 수 있다. 표준편차(σ)에 대해서는 여러 가지의 측정방법이 있고 그 예는 다음과 같다.

(1) 공시험 검체의 표준편차에 근거하는 방법

적당한 수의 공시험 검체를 분석하여 이 측정값의 표준편차를 계산함으로써 시험 방법의 기본(background) 반응 정도를 측정한다.

(2) 검량선에 근거하는 방법

검량선은 정량한계에 근접한 분석대상물질을 함유하는 검체를 가지고 작성되어야 한다. 회귀직선에서 잔차의 표준편차(residual standard deviation) 또는 회귀직선(regression line)에서 y 절편의 표준편차를 표준편차 σ 로서 이용할 수 있다.

라. 제출자료

정량한계와 함께 정량한계를 구할 때 사용한 방법을 첨부자료에 제시하여야 한다.

계산된 정량한계는 정량한계 혹은 그 부근 농도로 조제된 적당한 수의 검체에 대해 분석을 실시하여 그 값의 타당함을 입증하여야 한다.

8. 완전성(Robustness)

완전성은 시험방법을 개발하는 단계에서 평가되어야 하며, 그 평가방법은 개발하려고 하는 시험방법의 형태에 따라 다르다. 완전성은 의도적으로 분석조건에 변동을 주었을 때 분석에 대한 신뢰성을 보여야 한다.

만약, 측정값이 분석조건 변경에 따라 영향을 받기 쉬운 경우라면, 분석조건을 적절히 관리하거나 시험방법 중에 주의 문구를 포함시킬 필요가 있다. 완전성을 평가함에 따라 시스템적합성에 관한 일련의 파라미터(예를 들면, 분리도)를 확립할 수 있다. 이러한 파라미터를 확인함으로써 일상의 분석에서 시험방법의 타당성이 유지되고 있음을 보증할 수 있다.

대표적인 변동인자는 다음과 같다.

가. 여러 가지의 시험방법에 공통되는 변동인자

- 시험용액의 안정성
- 추출시간

나. 액체크로마토그래프법의 대표적인 변동인자

- 이동상의 pH

- 이동상 조성(composition)의 변경
- 컬럼의 변경(different lots or suppliers)
- 온도
- 유량

다. 기체크로마토그래프법의 대표적인 변동인자

- 컬럼의 변경(different lots or suppliers)
- 온도
- 유량

9. 시스템적합성 시험(System suitability testing)

시스템적합성 시험은 많은 분석법을 포괄하고 있다. 이는 시험장비, 전자공학적 기술, 분석조작 및 검체가 하나의 포괄적인 통합된 시스템을 구성하여 평가될 수 있다는 개념에 기초한다. 시험방법에 대해 확립해야할 시스템적합성의 파라미터는 밸리데이션하고자하는 시험방법에 따라 다르다. 추가적인 사항은 약전을 참조한다.

별표 1)

시험방법에 따라 평가해야 할 밸리데이션 파라미터

분석법 종류	확인시험	순도시험	정량시험 -용출시험(중 정량시험 에 한함)
밸리데이션 파라미터		정량시험 한도시험	-함량시험/효능시험
정확성	-	+	+
정밀성			
반복성	-	+	+
실험실내 정밀성	-	+(1)	+(1)
특이성(2)	+	+	+
검출한계	-	-(3)	-
정량한계	-	+	-
직선성	-	+	+
범위	-	+	+

- 일반적으로 평가할 필요가 없는 것

+ 일반적으로 평가가 필요한 것

- (1) 실험실간 정밀성(재현성, Reproducibility)이 평가되는 경우 실험실내 정밀성 (Intermediate precision)은 필요하지 않음
- (2) 한 가지 분석법으로 특이성을 입증할 수 없는 경우 다른 분석법을 추가로 사용하여 특이성을 입증할 수 있음
- (3) 필요시 설정

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	B1-2012-2-013	2012.08.	개정
2	B1-2015-2-081	2015.12.	가이드라인 명칭변경, 법적효력 문구 통일, 양식표준화, 연락처 현행화

“의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인”

발행일	2015년 12월
발행인	손여원
편집위원장	이선희
편집위원	(의약품심사부 의약품규격과) 김은정, 양성준, 이경신, 김선미, 윤나영, 강나루, 유지혜, 김지예, 서재욱, 지정은, 정혜선, 안지은
도움주신분	식품의약품안전평가원, 순환계약품과, 종양약품과, 소화계약품과, 약효동등성과
발행처	식품의약품안전평가원 의약품심사부 의약품규격과
