

## 含量测定类方法验证中的统计学评价\*

马莉<sup>1,3</sup>, 杨亚宗<sup>2</sup>, 张云雷<sup>2</sup>, 冯铮铮<sup>2\*\*</sup>, 谭德讲<sup>1\*\*</sup>, 吕昭云<sup>2</sup>, 杭太俊<sup>3</sup>

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 2. 北京协和药厂, 北京 102629; 3. 中国药科大学, 南京 210009)

**摘要 目的:** 针对双环醇片主成分的测定方法, 论证含量测定类方法验证的科学性和可靠性, 为今后该类方法的验证研究提供更严谨的模板或范例。 **方法:** 通过科学的实验设计, 制定合理的实验方案, 获得专属性、线性与范围、准确度和精密度等性能参数。 **结果:** 双环醇片中主成分与有关物质可完全分离。在标示量 70%~130% 的范围内线性关系良好 (决定系数  $R^2 > 0.9999$ , 剩余标准偏差  $RSME = 0.2996$ ); 在 80%~120% 的 5 个浓度点下的相对偏倚均不超过 0.78%, 其 95% 置信限均不超过  $\pm 2\%$ ; 各浓度下的中间精密度均不超过 0.89%, 中间精密度的置信上限均不超过 1.43%; 方法的总变异在 120% 浓度下最大, 为 0.87%, 所对应的 95%/90% 容忍区间为 98.11%~102.78%, 95% 预测区间为 98.95%~101.95%; 对可接受标准为 90.0%~110.0% 的双环醇片, 其方法能力指数均超过 2, 即该方法的误判率低于 1/100 万。 **结论:** 该方法经验证可满足其对双环醇片含量定量测定的预期用途。同时通过实验设计可获得更多科学可靠的方法性能指标, 这些指标使得方法验证的结论更加可靠和直观, 且能够从整体把握方法的适用性。新提供的方法容忍区间、预测区间和方法能力指数等参数, 为今后判断方法确认和转移是否成功提供了依据。

**关键词:** 双环醇; 方法验证; 含量测定; 方法能力指数; 置信限; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)02-0207-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.02.04

## Statistical evaluation of method validation for content determination\*

MA Li<sup>1,3</sup>, YANG Ya-zong<sup>2</sup>, ZHANG Yun-lei<sup>2</sup>, FENG Zheng-zheng<sup>2\*\*</sup>,  
TAN De-jiang<sup>1\*\*</sup>, LÜ Zhao-yun<sup>2</sup>, HANG Tai-jun<sup>3</sup>

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; 2. Beijing Union Pharmaceutical Factory, Beijing 102629, China; 3. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract Objective:** To demonstrate the scientificity and reliability of the method validation for major content determination in bicyclol tablets as an example in order to provide a more rigorous template or example for future validation of such methods. **Methods:** Through scientific experiment design and reasonable experimental scheme to obtain performance parameters, such as specificity, linearity and range, accuracy and precision. **Results:** The

\* 国家十二五“重大新药创制”科技重大专项(2015ZX09303001)

\*\* 通信作者 谭德讲 Tel:(010)53851581; E-mail: tandj@nifdc.org.cn

冯铮铮 Tel: 13683611439; Email: 13683611439@163.com

第一作者 马莉 Tel: 15311951812; E-mail: 15311951812@163.com

杨亚宗 Tel: 18001327269; E-mail: yangyazong123@126.com

main components in bicyclol tablets could be completely separated from the related substances. The linearity was excellent in the range of 70% to 130% of labeling quantity ( $R^2 > 0.9999$ , RSME=0.2996). All relative biases did not exceed 0.78% at the five concentration points of 80%–120%, and all 95% confidence limits did not exceed  $\pm 2\%$ . All intermediate precisions were not more than 0.89% and all upper confidence limits of the intermediate precision were not more than 1.43%. The maximum total variation of the method was 0.87% at the concentration of 120% and the corresponding 90% tolerance interval with 95% confidence level was 98.11%–102.78%. The prediction interval with 95% confidence level was 98.95%–101.95%. For bicyclol tablets with the acceptable criteria of 90.0%–110.0%, the method capability index was more than 2, which means the misjudgment rate of this method was less than one millionth. **Conclusion:** The method has been validated to meet its intended use for quantitation of bicyclol tablets. More scientific and reliable method performance indicators can be obtained through the design of experiment, which make the conclusions of the method validation more reliable and intuitive, and can grasp the applicability of the method from the whole. The newly provided tolerance interval, prediction interval and the method capability index, etc., provide a basis for judging the success of method verification and transfer in the future.

**Keywords:** bicyclol; method validation; content determination; method capability index; confidence limit; HPLC

分析方法是药品质量标准中的要素之一, 稳健可靠的分析方法是控制药品质量的重要基础; 各国药典和相关法规对方法验证都非常重视, 并提出相应的规范要求<sup>[1-3]</sup>, 重点指导方法验证的规范性。但目前这些法规之间存在差异, 对一些基本问题的回答还存在含糊不清之处, 如 ICH 对方法验证的 LOD 值给出了不同的获取方式, 但对于不同方式并未作深入比较, 如何更全面规范地描述方法满足其预期用途仍然值得探讨。本文拟通过对双环醇片的含量检测方法<sup>[4]</sup>, 结合方法验证的最新进展<sup>[5-6]</sup>和本专栏中《定量理化分析方法满足预期用途的判断标准探讨》《方法验证性能参数的获取和评价新方式探讨》的论述, 从顶层设计出发, 在原有方法<sup>[7]</sup>的基础上, 引入更多统计分析手段, 对其方法验证进行深入评价, 同时为今后含量测定类方法的验证提供参考依据。

## 1 仪器和试剂

### 1.1 仪器

2 台不同编号的 U3000 高效液相色谱仪 (带 DAD 检测器, Thermo 公司); XS 2015 十万分之一电子天平 (Mettler Toledo 公司); Thermo 超纯水机 (Thermo 公司); KQ2200E 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂和试药

对照品: 双环醇 (批号 101044-201001, 纯度 99.7%)、联苯双酯 (批号 100192-201504, 纯度 99.9%)、甲醚化双环醇 (批号 420032-201501, 用于

鉴别), 均由中国食品药品检定研究院提供。

样品: 双环醇片 (批号 181104, 规格 25 mg, 北京协和药厂)。

试剂: 乙腈 (色谱级, 批号 178496, Fisher Chemical 公司); 乙酸 (色谱纯, 批号 20140307, 天津福晨化学试剂厂); 自制超纯水、纯化水。

## 2 溶液的制备

### 2.1 供试品溶液

取本品 10 片, 用乳钵研细至无颗粒感, 取约 145 mg (约相当于双环醇 25 mg), 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加入乙腈超声 (功率 100 W, 频率 40 kHz) 溶解, 用乙腈稀释至刻度, 滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 中约含双环醇 100  $\mu\text{g}$  的溶液, 即得。

### 2.2 空白辅料溶液

取空白片粉末约 120 mg, 按“2.1”项下方法配制, 即得。

### 2.3 杂质增敏供试溶液

精密称取双环醇杂质 I 对照品 (联苯双酯) 20 mg 与双环醇杂质 II 对照品 (甲醚化双环醇) 60 mg, 置 20 mL 量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 即得杂质储备液; 精密量取杂质储备液和“2.1”项下的续滤液各 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 即得。

### 2.4 双环醇对照品溶液

取双环醇对照品适量, 按“2.1”项下方法配制,

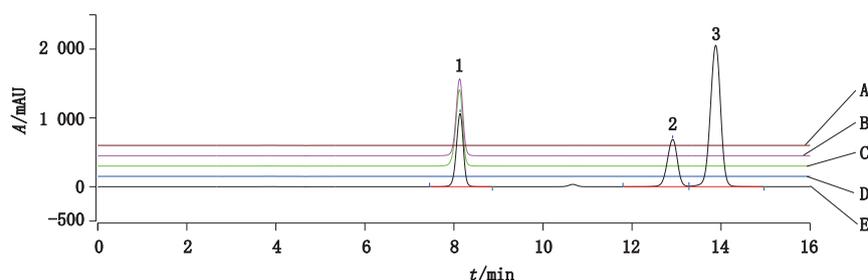
制成每 1 mL 中约含双环醇 100  $\mu\text{g}$  的溶液, 即得。

### 3 色谱条件

色谱柱: Waters  $\text{C}_{18}$  Symmetry (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 流动相: 乙腈-水-醋酸 (55:45:0.01); 流速: 0.5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 检测波长: 228 nm; 进样体积: 10  $\mu\text{L}$ ; 分析时间: 16 min。

### 4 统计分析软件

本文所用统计软件包括 JMP 和《理化方法验证统计软件 (PCMV)》



1. 双环醇 (bicyclol) 2. 联苯双酯 (bifendate) 3. 甲醚化双环醇 (methyl etherified bicyclol)

图 1 空白辅料溶液 (A)、供试品溶液 (B)、双环醇对照品溶液 (C)、空白溶剂 (D)、杂质增敏供试溶液 (E) 的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank excipient solution (A), sample solution (B), bicyclol reference solution (C), blank solvent (D) and impurity sensitized sample solution (E)

## 5.2 线性

### 5.2.1 实验设计

对于原料药或制剂的含量测定, USP<1225> 及 ICH 指南均推荐线性的最小范围应包括 80%~120% 的 5 个浓度点。在此基础上, 期望考察更宽范围的线性关系, 因此检测了 7 个浓度点, 即相对于标示量的 70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%。

### 5.2.2 操作步骤

精密称定双环醇对照品 7 份, 按“2.1”项下方法配制, 得到质量浓度分别为 70、80、90、100、110、120、130  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的系列对照品溶液, 相当于标示量的 70%~130%。取上述系列对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱图 (各溶液平行 2 次测定), 检测结果见表 1。

### 5.2.3 数据分析

线性方程: 在判断各个浓度下的数据均满足方差齐性的前提以后, 以双环醇对照品浓度  $X$  ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标, 色谱峰峰面积  $Y$  为纵坐标, 进行线性回归, 得到的线性曲线如图 2 所示。可知曲线的回归方程:

$$Y=2\ 050.868X+0.134 \quad R^2>0.999\ 9 \quad \text{RSME}=0.299\ 6$$

## 5 方法验证及结果

### 5.1 系统适用性和专属性

精密量取“2”项下各溶液 10  $\mu\text{L}$ , 以及空白溶剂 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 获得色谱图 (图 1)。双环醇的保留时间大约在 8 min, 主峰与相邻杂质联苯双酯峰的分度为 13.67>2, 理论塔板数以双环醇计为 131 55, 双环醇的回收率为 100.6%。空白溶剂、空白片及主要杂质均对双环醇的测定均无干扰。

表 1 线性试验的原始数据

Tab. 1 Raw data for linear test

浓度 (concentration) / ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	峰面积 (peak area) / mAU $\cdot$ min	
	1	2
70.80	145.194 4	145.202 0
80.36	165.092 7	165.212 5
90.76	186.071 4	186.181 1
100.38	205.876 9	205.787 1
110.44	227.211 7	227.194 4
120.40	246.779 8	246.759 5
130.72	268.106 3	268.262 1

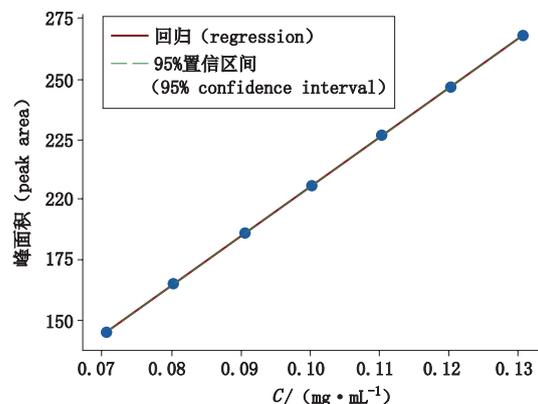


图 2 线性拟合结果

Fig. 2 Linear fitting result

截距的检验:将截距与零点做统计学比较<sup>[8]</sup>,结果如表2所示。进行截距与零点的  $t$  检验得概率  $P=0.749>0.05$ ,证明截距与零点无显著差异;截距的

95% 置信区间为  $[-0.761, 1.030]$ ,此区间包括了零点,因此可以使用外标法计算浓度。

表2 截距的检验结果

Tab. 2 Intercept test results

参数项 (parameter item)	估计值 (estimated value)	标准误差 (standard error)	$t$	概率 $> t $ (probability $> t $ )	95% 置信下限 (95% lower confidence limit)	95% 置信上限 (95% upper confidence limit)
截距 (intercept)	0.134	0.411	0.33	0.749	-0.761	1.030
斜率 (slope)	2 050.868	4.010	511.40	<0.000 1	2 042.130	2 059.606

残差分布:所得线性方程的残差分布情况如图3所示。正态分位数图显示残差分布趋于正态,表明在标示量70%~130%的范围内,残差的分布不会受到浓度变化的影响,所得线性方程在标示量70%~130%的范围内,浓度与峰面积的线性关系良好。

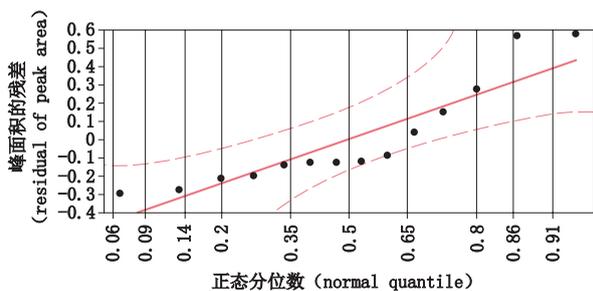


图3 残差正态分位数图

Fig. 3 Residual normal quantile map

### 5.3 准确度和精密度

#### 5.3.1 实验设计

(1) 实验样本量的计算:合适的实验样本量  $n$ <sup>[9]</sup>可以确保所获得性能参数的可靠性,同时满足了验证试验的完整性和把握度。根据预实验情况,在JMP软件中输入方法的偏倚  $\theta$  值(不超过5%),中间精密度  $\sigma_p$  值(不超过2%),  $\alpha$  值(0.05)、 $1-\beta$  值( $\beta=0.1$ ),得到  $n=5$ 。

(2) 实验影响因素:对影响方法准确度和精密度的关键因素进行风险分析<sup>[10]</sup>,同时考虑到实验室现有设备与人员条件,最终确定考察的因素有仪器、人员和运行间隔。

(3) 采取完全析因<sup>[11]</sup>法,确定了包含3因素2

水平的8个不同试验模式,见表3。

(4) 浓度点的设置:结合 USP<1225> 及 ICH 要求,一般可采用包含80%~120%的3个浓度点,考虑到外标法的使用可能会导致低浓度点,如80%的点产生的偏倚较大,为了更好地反映回收率情况,最终确定浓度考察点为80%、90%、100%、110%、120%。

#### 5.3.2 操作步骤

精密称定双环醇原料药5份,分别置25 mL量瓶中,再向各量瓶中分别加入空白辅料120 mg,按“2.1”项下方法操作,得到质量浓度约为80、90、100、110、120  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,即相当于标示量的80%~130%,每个浓度独立制备3份。按表3进行8组实验,检测结果见表3。

#### 5.3.3 结果分析

**5.3.3.1 准确度** “预测值-实际值”的线性:根据 USP<1225> 的提议,可通过比较预测浓度和实际浓度的差异来评估准确度,期望其斜率接近1或置信区间包含1。因此对不同浓度下的“预测含量-实际含量”做了线性拟合,结果见图4。可知线性方程:  
 $Y=0.999X+0.158$

根据表4,将斜率与1做检验,可知斜率与1无显著性差异( $P=0.894>0.05$ ),并给出了斜率的95%置信区间 $[0.991, 1.008]$ ,包括1,满足 USP<1225> 相关要求。

表5是根据软件评估准确度获得的结果,可知平均偏倚为0.59%,且各浓度下的偏倚置信上下限均未超过  $\pm 2\%$ ,因此在标示量80%~120%的范围内,方法的准确度均能满足需求。

表 3 8 组试验的回收率结果

Tab. 3 Recovery results of 8 groups of tests

试验模式 (test mode)	试验 1 (test 1) A1/E1/R1	试验 2 (test 2) A1/E1/R2	试验 3 (test 3) A1/E2/R1	试验 4 (test 4) A1/E2/R2	试验 5 (test 5) A2/E1/R1	试验 6 (test 6) A2/E1/R2	试验 7 (test 7) A2/E2/R1	试验 8 (test 8) A2/E2/R2
80%	100.83	100.04	100.84	101.67	100.07	100.80	100.32	101.05
80%	101.16	100.64	101.06	101.08	101.13	100.90	100.72	101.13
80%	100.52	99.96	100.66	101.37	100.87	100.26	100.80	100.88
90%	100.27	100.04	100.52	100.43	100.59	100.74	100.54	101.07
90%	100.65	99.54	101.21	100.61	100.07	100.77	100.25	100.79
90%	100.68	100.07	101.12	100.63	100.49	99.88	100.50	101.66
100%	100.27	100.42	100.86	100.28	100.82	99.84	100.96	101.45
100%	100.30	100.33	101.12	101.82	99.98	99.62	100.98	100.69
100%	100.26	100.58	100.39	100.99	100.82	99.50	101.14	100.73
110%	100.71	100.11	100.68	101.30	100.74	100.04	100.94	101.45
110%	100.84	99.95	100.53	101.24	100.77	99.64	100.51	101.00
110%	100.47	100.25	100.59	101.42	101.03	99.68	99.05	100.85
120%	100.16	100.00	100.40	101.33	100.47	99.53	100.00	101.26
120%	100.49	100.40	100.62	101.34	100.87	99.96	100.37	101.32
120%	100.47	97.69	100.12	101.13	101.01	99.93	99.63	102.20

注 (note): 1. 表中第一列的数字为该浓度相对于标示量的百分比; 结果均表示为检测浓度与实际浓度的百分比 (The numbers in the first column of the table are the percentages of the concentration relative to the labeled amount; the results are expressed as the percentage of the detected concentration to the actual concentration); 2. A 表示“分析人员”, E 表示“仪器”, R 表示“操作”; 1, 2 表示两个水平 (A represents “analyst”, E represents “instrument”, R represents “run”; 1, 2 represents two levels)

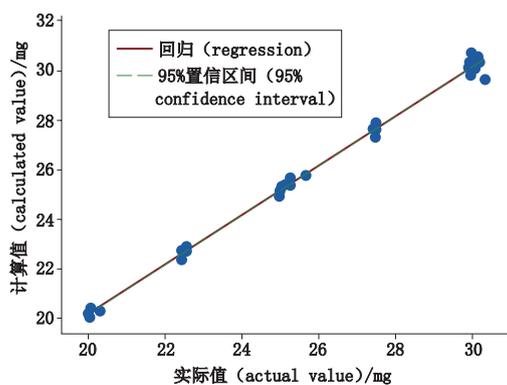


图 4 准确度曲线  
Fig. 4 Accuracy curve

5.3.3.2 精密度 同时对表 3 数据进行精密度评估, 结果见表 6, 可知总中间精密度为 0.59%, 且各浓度下的中间精密度上限均未超过 1.43%, 因此在标示量 80%~120% 的范围内, 方法的精密度能够满足要求。

5.3.3.3 方法能力评价 联合了方法的准确度与精密度, 设置产品的可接受变异为  $\pm 10\%$  (因为产品的可接受标准即为 90.0%~110.0%), 对总体方法能力进行评价, 结果如表 7 和图 5、6 所示。可知在 80.0%~120.0% 的范围内, 方法能力指数均达到了一级, 由于方法变异造成的误判率可以忽略不计<sup>[11]</sup>, 此方法在该范围内能够很好地满足检测需求。

表 4 斜率的检验结果

Tab. 4 Slope test results

参数项 (parameter item)	估计值 (estimated value)	标准误差 (standard error)	$t$	概率 $> t $ (probability $> t $ )	95% 置信下限 (95% lower confidence limit)	95% 置信上限 (95% upper confidence limit)
截距 (intercept)	0.158	0.105	1.50	0.136	-0.050	0.366
斜率 (slope)	0.999	0.004	-0.13	0.894	0.991	1.008

表 5 各浓度下的准确度分析

Tab. 5 Accuracy analysis at different concentrations

准确度 (accuracy)	样本量 (sample size)	80%	90%	100%	110%	120%	总均值 (total mean)/%
均值 (mean)/%	/	100.78	100.55	100.59	100.57	100.45	100.59
偏倚 (bias)/%	/	0.78	0.55	0.59	0.57	0.45	0.59
偏倚置信区间 (confidence interval for bias)/%	24	0.56~1.01	0.29~0.80	0.27~0.91	0.22~0.93	-0.05~0.95	/

表 6 各浓度下的精密度分析

Tab. 6 Precision analysis at different concentrations

精密度 (precision)	样本量 (sample size)	80%	90%	100%	110%	120%	总均值 (total mean)/%
报告值精密度 (reported value precision)/%	8	0.34	0.39	0.47	0.53	0.75	0.49
报告值精密度上限 (upper limit of reported value precision)/%	8	0.60	0.69	0.85	0.94	1.34	/
中间精密度 (intermediate precision)/%	24	0.43	0.47	0.57	0.61	0.89	0.59
中间精密度上限 (upper limit of intermediate precision)/%	24	0.67	0.75	0.91	1.00	1.43	/

表 7 不同浓度水平下的方法能力评价

Tab. 7 The evaluation of method capability at different concentrations

相对浓度 (relative concentration)/ %	方法总变异 (method variability)/ %	95%/90% 容忍区间 (95%/90% tolerance interval)/%	95% 预测区间 (95% prediction interval)/%	10%RSP* 的方 法能力指数 (MCI under 10%RSP)	10%RSP* 时 方法误判率 (method misjudgment rate under 10%RSP)	10%RSP* 时的 方法级别 (method level under 10%RSP)
80	0.85	99.73~101.84	100.11~101.46	3.91	0.00E+00	I
90	0.67	99.34~101.76	99.77~101.32	4.98	0.00E+00	I
100	0.76	99.11~102.67	99.64~101.54	4.41	0.00E+00	I
110	0.78	98.93~102.22	99.52~101.63	4.28	0.00E+00	I
120	0.87	98.11~102.78	98.95~101.95	3.83	0.00E+00	I

注 (note): \* 表示相对质量标准 (relative specification, RSP)

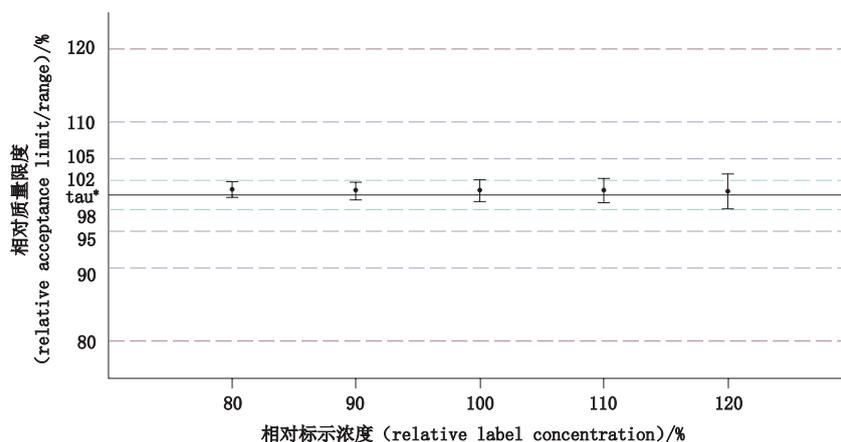
## 6 讨论与总结

### 6.1 科学的实验设计是保证方法性能参数可靠性的基础

以往含量测定的方法验证<sup>[2-3]</sup>,多采用单独实验设计分别获得准确度和精密度;该方式割裂了这些参数的相互关系,使所获参数的可靠性受到损失<sup>[12]</sup>。USP<1210><sup>[5]</sup>所采用的实验设计虽然引入了多因素综合设计的方式(3个浓度,每个浓度制备3份样品得到9次实验结果),但这种设计一旦出现浓度范围设置不

当,如出现异常值或其他偶然变异因素,很可能导致对方法适用范围的损失或错误结论;同时,因每个浓度点的样本量过少,也无法获得可靠的准确度和精密度。

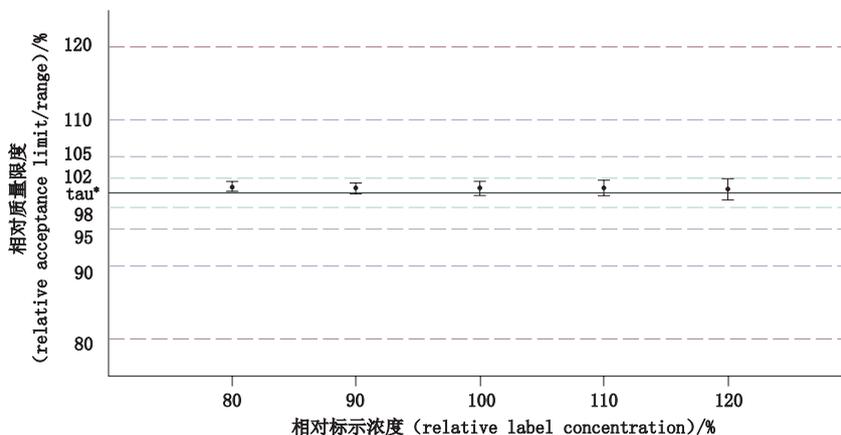
为克服上述设计的局限性,本实验首先根据方法的预期用途,选定不同的浓度范围,然后在充分考虑样本量<sup>[13]</sup>基础上,对每个浓度点采用3因素2水平的完全析因设计<sup>[9]</sup>(2仪器、2人员和2运行间隔)进行8次实验,以确保每个浓度点所获得各方法性能参数真实可靠。



\* 目标值 (target value)

图 5 95%/90% 容忍区间

Fig. 5 95%/90% tolerance interval



\* 目标值 (target value)

图 6 95% 预测区间

Fig. 6 95% prediction interval

该设计除具有能获得各浓度点的可靠方法性能参数、有利于更好地判断方法适应范围外,还有利于从验证试验结果中计算出各因素的变异分量,从而识别出更多信息。如在本实验中:(1)通过方差分析可发现人员、仪器和运行间隔这3个主要因素中,不同仪器所产生的方差远大于分析人员和运行间隔,说明仪器是影响该方法的主要因素;进一步对仪器进行单独方差分析,发现仪器2的检测结果比仪器1产生更大的偏倚,说明就双环醇片的含量检测而言,仪器1的检测性能要优于仪器2。(2)根据各浓度点下的结果分布散点图,可以查找出异常数据点等。

### 6.2 含量测定类定量方法的判定标准或依据问题

目前,《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)<sup>[2]</sup>和一些文献<sup>[6]</sup>对含量测定类方法采用

Horwitz 方程给出的方式作为判断其满足预期用途的标准。欧洲官方药品检定实验室 (Official Medicines Control Laboratories, OMCL) 内部采用方法能力指数的方式进行判断,但其仅用精密度来代替方法的总变异 (variability)。检测方法是判定药品质量的重要量具,而前述的判断方式或依据已被证明过于粗糙,不能作为判断检测方法的标准<sup>[14]</sup>。

本文采用本专栏中《定量理化分析类方法满足预期用途的判断标准探讨》一文提出的方法能力指数和 USP<1210> 容忍区间和预测区间的方式进行判断。方法能力指数的判断模式对于含量测定类方法,特别在已确定出所检测产品的质量标度时,更有利于根据方法误判率来判断方法是否可用,以及使用该方法的的风险大小。本次实验结果表明,对产品的质量

标准为 90%~110% 时,方法能力指数在 80%~120% 的范围内均在 2 以上,检测方法误判率可忽略不计。

本文所计算出的方法变异的预测区间和容忍区间<sup>[15]</sup>也可评估方法是否适于其预期用途;但没有方法能力指数直接。这 2 个指数的优势是可以为后续方法确认和转移的判断提供依据,即进行方法确认或转移时,其个体检测结果有 95% 的概率应落在其预测区间内,所有检测结果的 90% 有 95% 的概率会落在容忍区间内。

### 6.3 《中国药典》中双环醇片的测定方法完全满足其预期用途

本次实验对于《中国药典》中收录的双环醇片的含量测定方法(即 HPLC 法)进行了更全面深入的验证:在标示量的 70%~130% 范围内,线性方程为  $Y=2050.868X+0.134$  ( $R^2>0.9999$ ),回归线标准误差(RSME)在 0.30 左右,符合要求。在标示量的 80%~120% 范围内,准确度中的最大相对偏倚发生在 80% 标示量点(0.78%);精密度中的最差浓度点发生在 120% 标示量点(中间精密度值为 0.89%)。各浓度点的方法总变异位于 0.67%~0.87% 范围内,95%/90% 容忍区间位于 98.11%~102.78% 范围内,95% 预测区间位于 98.95%~101.95% 范围内。对于检测质量限度标准为 98.0%~102.0% 的原料药,其方法能力指数在 0.8 以上(IV 级),方法的误判率不超过 0.8%;对于检测质量限度标准为 90.0%~110.0% 的终产品,其方法能力指数均在 2.0 以上(I 级),方法的误判率可忽略。综上可见,该方法可用于双环醇原料药和终产品的含量检测。

#### 参考文献

- [1] USP 41-NF 36 [S]. 2018: 7665 (<1225>Validation Of Compendial Procedures)
- [2] 中华人民共和国药典 2015 年版. 四部 [S]. 2015: 374  
Ch P 2015. Vol IV [S]. 2015: 374
- [3] ICH Q2 (R1): Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedure: Text and Methodology [S]. 2005
- [4] 唐静. 双环醇片防治抗癌药物所致肝损害临床研究 [J]. 中国药业, 2015, 24 (16): 43  
TANG J. Clinical research on bicyclol tablet for preventing and treating anti-cancer drug induced liver [J]. China Pharm, 2015, 24 (16): 43
- [5] USP 41-NF 36 [S]. 2018: 7663 (<1210>Statistical Tools For Procedures Validation)
- [6] <1200> Requirements for Compendial Validation [J/OL]. USP Pharmacopoeial Forum, 2015, 41 (5) [2017-08-07]. <http://www.usppf.com/pf/pub/index.html>
- [7] 中华人民共和国药典 2015 年版. 二部 [S]. 2015: 93  
ChP 2015. Vol II [S]. 2015: 93
- [8] ERMER J, MILLER J. Method Validation in Pharmaceutical Analysis [M]. Weinheim: Wiley-Vch, 2005: 30
- [9] USP 41-NF 36 [S]. 2018: 1803 (<1033>Biological Assay Validation)
- [10] FDA. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry [S]. 2015
- [11] 谭德讲, 马双成. 药品监督与检定中的统计学应用 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2011  
TAN DJ, MA SC. Statistical Application in Drug Supervision and Verification [M]. Beijing: China Science and Technology Press, 2011
- [12] 胡良平. 检验医学科研设计与统计分析 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2004  
HU LP. Scientific Research Design and Statistical Analysis in Laboratory medicine [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2004
- [13] USP 41-NF 36 [S]. 2018: 6706 (<1010>Analytical Data—Interpretation and Treatment)
- [14] DESIMONI E, BRUNETTI B. Uncertainty of measurement and conformity assessment: a review [J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 400 (6): 1729
- [15] 张横, 谭德讲. 统计区间的作用及在药品质量控制中的应用 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33 (11): 1840  
ZHANG H, TAN DJ. The effects of statistical intervals and their application in pharmaceutical quality control [J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33 (11): 1840

(本文于 2018 年 12 月 14 日收到)