

TRS100 分析メソッド開発のガイド



目次

まえがき	3
1.はじめに	5
1.1 メソッド開発に関する考慮事項	6
1.2 成功の評価	8
1.3 ライフサイクルの概要	8
2.基本的な事項	9
2.1 ラマン分光分析	9
2.2 ケモメトリックス	11
2.3 単位	11
3.ステップ 1：実現可能性 - 最適な候補物質を見つける	12
3.1 良いサンプルとは	12
3.2 適切なサンプルを見つける	13
4.ステップ 2：キャリブレーション	16
4.1 サンプルの作成	16
4.2 DoE の判断DoE 決定木	17
4.3 サンプルの作成	18
4.4 考慮すべきその他の要素	19
4.5 サンプルの測定	19
4.6 モデルの構築	21
5.ステップ 3：メソッドバリデーション	28
5.1 バリデーションに使用するサンプル	29
5.2 真度の実証	29
5.3 精度の実証	30
5.4 特異性の実証	31
5.5 直線性と範囲の実証	32
5.6 堅牢性の実証	32
5.7 モデルが十分に良好でない場合	34
6.ステップ 4：メソッドのライフサイクル	34
6.1 モデルのメンテナンス、更新、ライフサイクル	34
7.メソッドの提出	37
7.1 メソッド提出のプロセス	37
7.2 メソッド提出の様子	39
7.3 考慮事項	40
8.執筆者	42
9.用語集	43
10.参考文献	44

- 本書は、規制当局によるリリース試験の承認に必要な基準に沿って定量透過型ラマン分光（TRS）メソッドを開発するための手引きです。
- 業界および規制関連の重要な文書を参照しており、基本レベルのユーザーに参考になるフォーマットでアプリケーションを紹介します。
- 実現可能性から日常的な使用までのメソッド開発プロセスを説明します。

本ガイドの主な学習内容

- ベストプラクティスガイダンス
- TRS100 の活用方法
- サンプルの作成とデータ取得の最適化
- 最適なメソッド開発手順を選ぶための意思決定プロセス
- 現実的な期待の設定
- モデル構築プロセス（手順解説ではありません）

注：

それぞれの定量 TRS メソッドはアプリケーションに依存しており、個別に処理する必要があります。

全体的に見て、メソッド開発プロセスは、論理的な分析上の検討事項に基づく、データ駆動型の科学的なプロセスです。

本書では、TRS メソッド開発に関する最も一般的なプロセス、問題、陥りがちな間違いについて扱っています。

対象読者

定量分析のための分光分析に関する知識がほぼない分析科学者

専門家の協力

Process Analytics の Phil Doherty（メソッドのライフサイクルに関するセクション 6）および Acorn Regulatory（規制機関への提出に関するセクション 7）に感謝を申し上げます。本書は、規制機関への TRS 分析メソッドの提出に対する、専門家たちの優れたサポートの経験に基づいています。これらの専門家の連絡先情報はセクション 8 に記載されています。

まえがき

本書の主な目的は、製薬分野における定量分析で透過型ラマン分光分析を使用するためのガイドとしての役割を果たすことにあります。実現可能性の評価から、モデル構築、バリデーション、規制機関へのメソッドの提出、ライフサイクル管理までを扱っています。

FDA および EMA プロセスの観点から、包括的なロードマップを準備するためにあらゆる努力が払われましたが、開発の作業を開始する前に、関連当局の規制項目を確認する必要があることを認識しておく必要があります。該当の管轄当局（CA）の現在の慣行と要件を認識し、承認のためにこれらの要件に従って取り組みを行うことは、エンドユーザーの責任です。承認は、完全に CA の判断になります。本ガイドは網羅的なものを目標としていませんが、透過型ラマン分光分析の取り組みを開始するユーザーのための有用なフレームワークとなり、メソッド提出の成功を促進します。

1.はじめに

透過型ラマン分光分析（TRS）は、例えば錠剤やカプセルなど、経口固形製剤の定量測定に使用します。TRS100 機器の主なアプリケーションは含量均一性（CU）試験です。この試験は、個々のサンプルを定量測定し、医薬品バッチにおける含量の範囲を計算することで、判定値を得ます。

TRS は、HPLC や UV-Vis など、CU 試験のための従来の分析技法を補完するものです。TRS では、サンプル前処理や溶媒が不要で、非破壊的であり、測定に数秒しかかかりません。

TRS はインタクトサンプル全体を測定し、バルクサンプル中のラマン有効成分に関する情報を収集します。サンプルのラマンスペクトルはレーザー照射によって生成され、ケモトリックモデルで分析することで定量測定値を得ます。

対照的に、LC ではクロマトグラフィーによる分離を使用して分析対象物からのレスポンスを取得します。LC ピークの面積を標準液の面積と比較して、定量測定値を得ることができます。簡単に言うと、TRS スペクトルでは一度にすべての成分情報が生成されますが、LC では時間経過によって成分が分離されるということです。図 1 を参照してください。

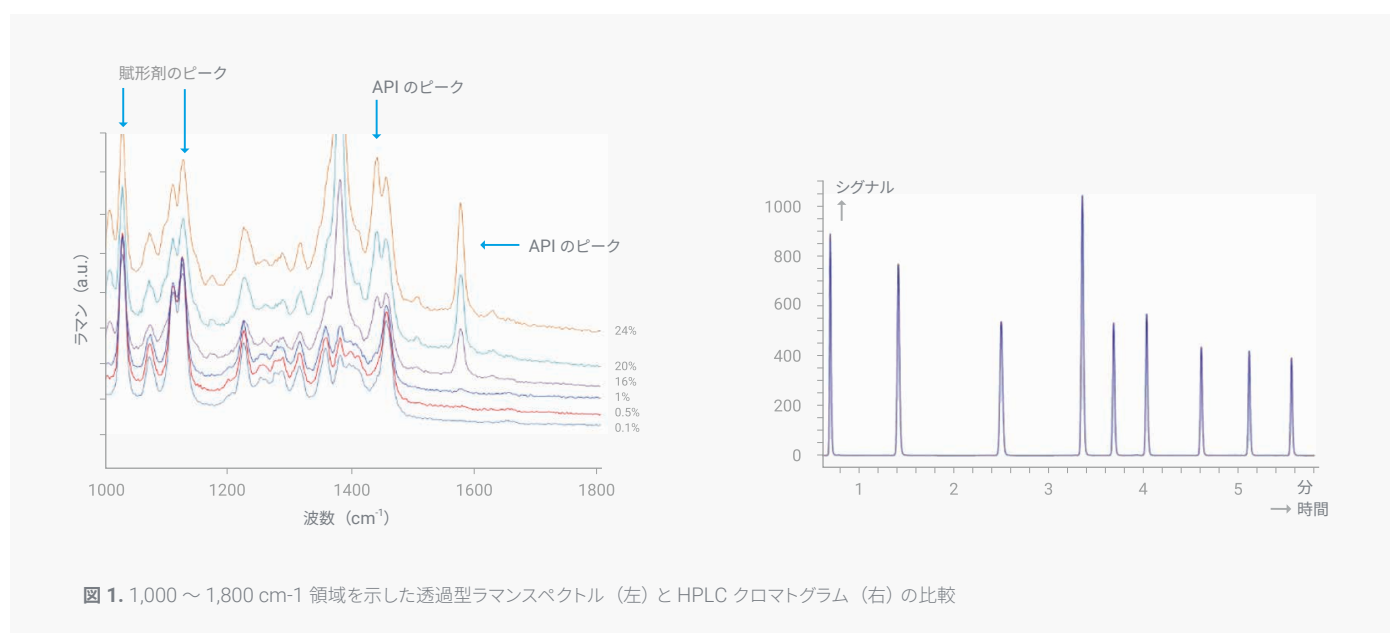


図 1. 1,000 ~ 1,800 cm⁻¹ 領域を示した透過型ラマンスペクトル（左）と HPLC クロマトグラム（右）の比較

新しい分析手順のメソッド開発には膨大な作業が必要になる場合があります。しかし、マイルストーンとして定義したチェックポイントと進捗状況を通じて、プロセスからメソッド開発の成功まで、開発者の規制当局の両方を導くことで、この作業をナビゲートできます。TRS では、これにより多くの場合に、製品分析の時間、関連コスト（人材、消耗品、溶媒、廃棄物）が大幅に低減され、試験スループットを向上できる可能性があります。図 2 を参照してください。

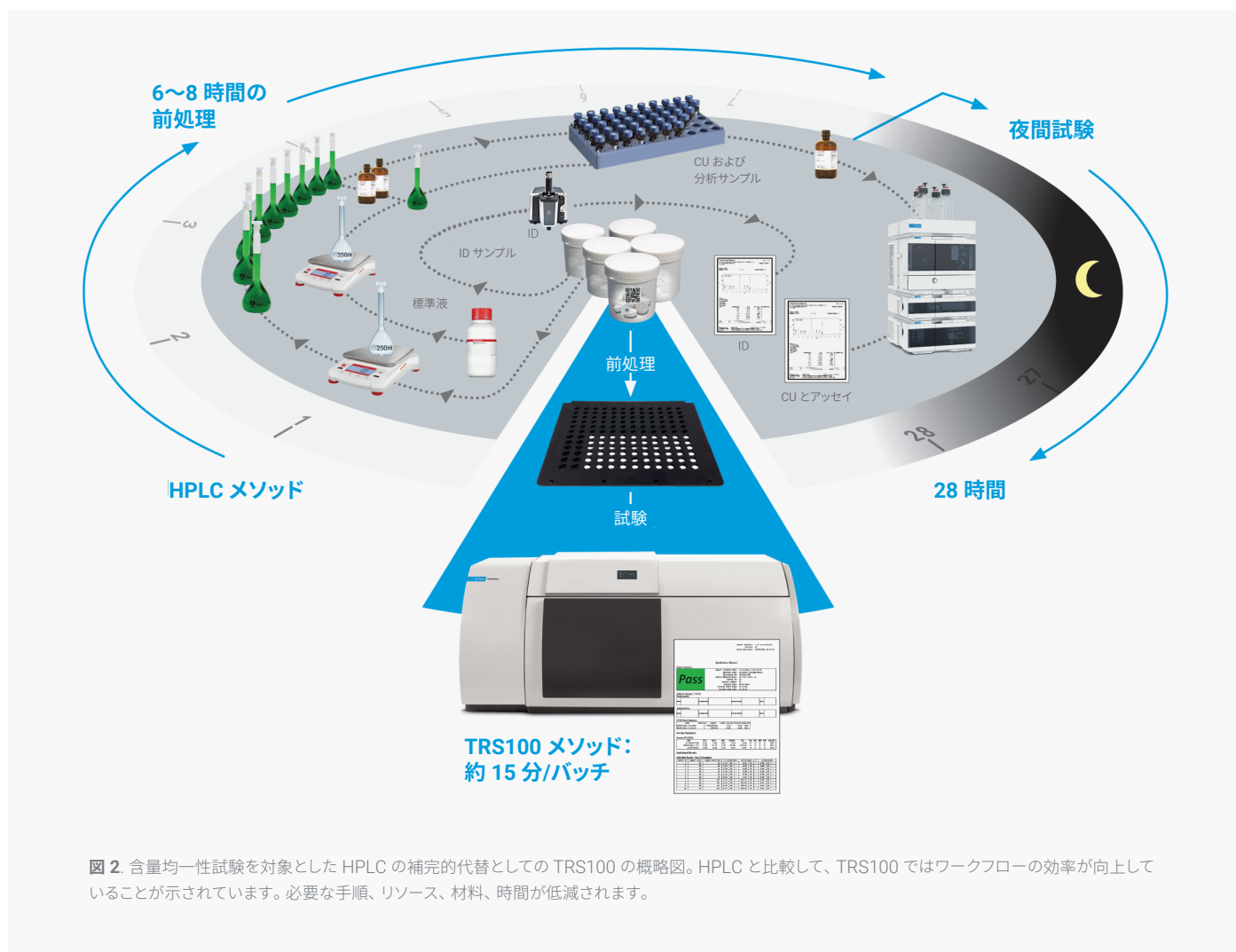


図 2. 含量均一性試験を対象とした HPLC の補完的代替としての TRS100 の概略図。HPLC と比較して、TRS100 ではワークフローの効率が向上していることが示されています。必要な手順、リソース、材料、時間が低減されます。

注：

メソッド開発プロセスと、該当の TRS アプリケーションの成功は、常にアプリケーションに基づきます。

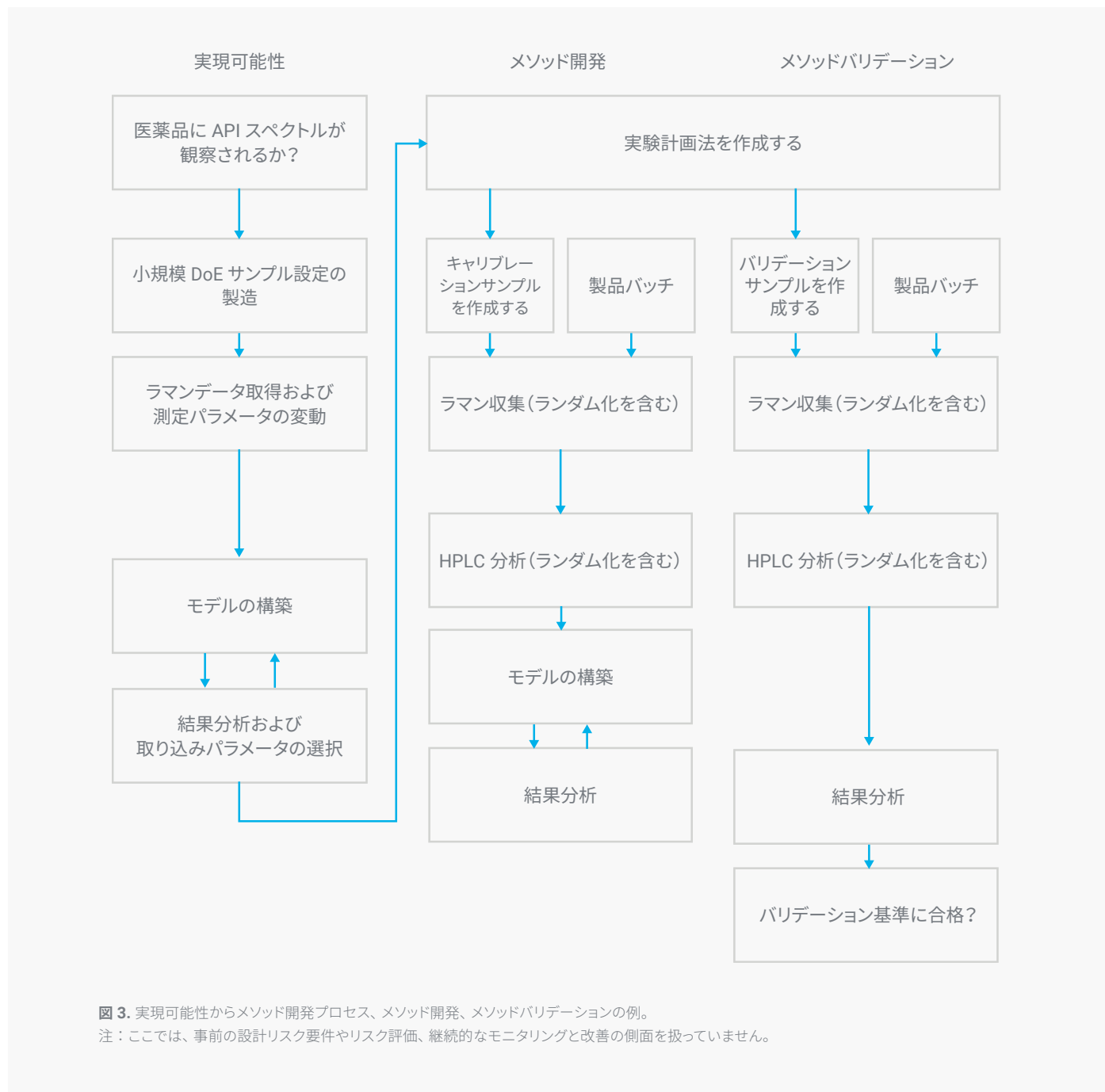
1.1 メソッド開発に関する考慮事項

TRS メソッド開発プロセスでは、他の分析技法の代替として使用するためにメソッドが開発されると仮定します。TRS メソッドは多くの場合、HPLC や UV 分析メソッドの代替として使用されます。具体的なメソッド開発プロセスは変化する可能性があります、以下を考慮する必要があります。

- 設計の要件
- リスク評価
- メソッド開発
- メソッドバリデーション基準
- 継続的なモニタリングと改善

開発においては、規制当局のガイダンスに従い、参照メソッドと TRS メソッドの両方に対して真度、直線性、精度を定量し、有意義な比較を行うことが必要です [1]。機器、オペレータ、両メソッドの日付など、現実世界の可変要素を適切にランダム化することで、比較によって同等のメソッドの成功条件を示すことができます。

定量透過型ラマン分光分析では、プライマリメソッドの結果を使用して、メソッドのキャリブレーションを行います。TRS モデルはプライマリメソッドに依存しており、通常は HPLC であるプライマリメソッドの結果を予測できる可能性があります。プライマリメソッドを使用してセカンダリメソッドは習得されるため、予測エラーは、プライマリメソッドとセカンダリメソッドの合計となります。これは想定されることで、許容基準で説明し、許容される必要があります。



1.2 成功の評価

メソッドが成功していることを確認するには、適切なバリデーション基準に照らし合わせて評価しなければなりません。そのような基準はメソッド開発を開始する前に確立する必要があります。

USP Chapter <1225> 公定手順の検証 [2] は、バリデーション基準に関する定義と全般的なガイダンスについて説明しています。ICH Q2R1 分析手順のバリデーション [1] にも定義が記載されています。

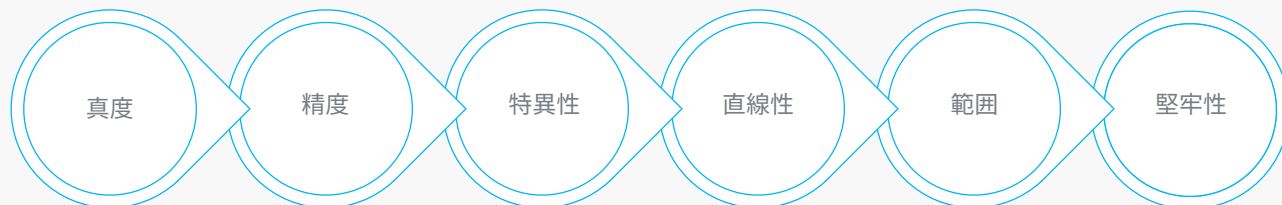


図 4. TRS メソッド開発の成功を評価するための ICH Q2R1 基準の概要。それぞれの項目については後の章で説明します。正確な限度範囲はアプリケーションによって異なります。

1.3 ライフサイクルの概要

すべてのデータに基づく分析メソッドでは、メンテナンス戦略が必要となります。

メソッドメンテナンスは、レポート対象の結果を正しく予測するメソッドの能力を定期的に評価するためのプロセスであり、必要に応じてモデルを調整したり再構築したりする計画です。計画には、モデルの診断をモニタリングするための戦略と、逸脱や計画された変更に対するアクションプランが含まれていなければなりません。メソッドメンテナンスについては、多数の参考文献で詳述されています。

それぞれのメソッドには、メソッドのライフサイクルにわたりモニタリングする必要がある重要な要素の説明が付属しています。プロセスは、推奨参考文献セクションに記載の複数の参照ガイダンスで取り上げられています。

文献やガイダンスは、厳格なフレームワークではなく、推奨事項を示すものです。任意のアプリケーションで、科学的に正当化されたり、提示された論理的根拠を裏付けるエビデンスが得られたりした場合には、固有の試験/手順が必要になる可能性があります。プロセスは、反復的な変更が可能な、循環的なステップを含み、柔軟に適応し向上していくことが可能です。

関連のガイダンスと文献により、TRS メソッド開発プロセスは 4 つの主要なステップに分類できます。図 5 を参照してください。

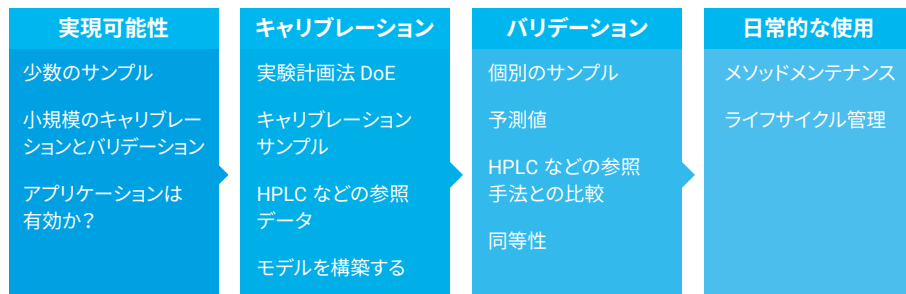


図 5. TRS メソッド開発プロセスの 4 つの主要な段階の概略図

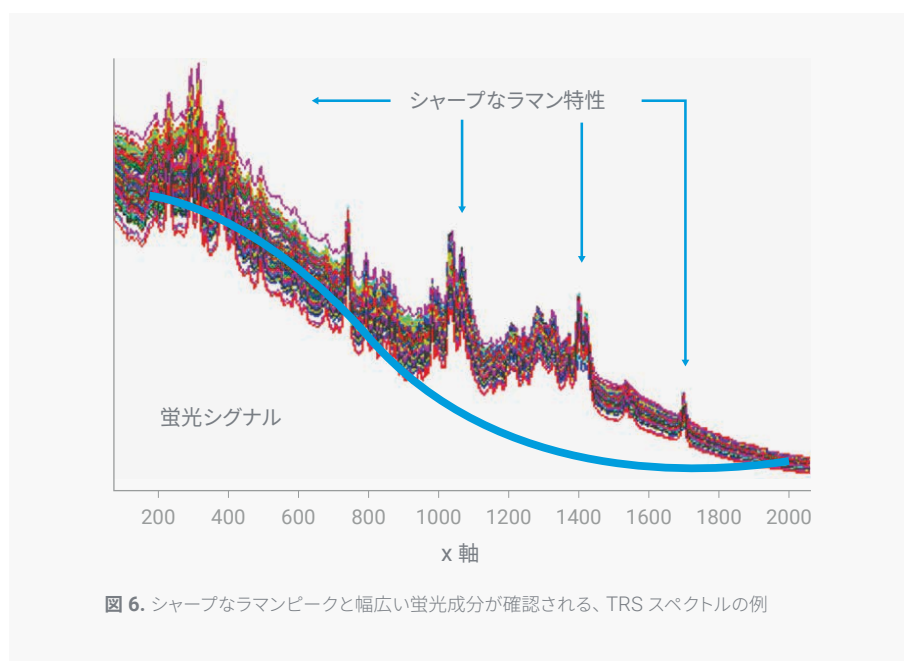
2. 基本的な事項

このセクションでは、他の分光分析技法から TRS を区別する主なポイントの概要を説明します。本文書の最後の推奨参考文献を参照してください。[3]

2.1 ラマン分光分析

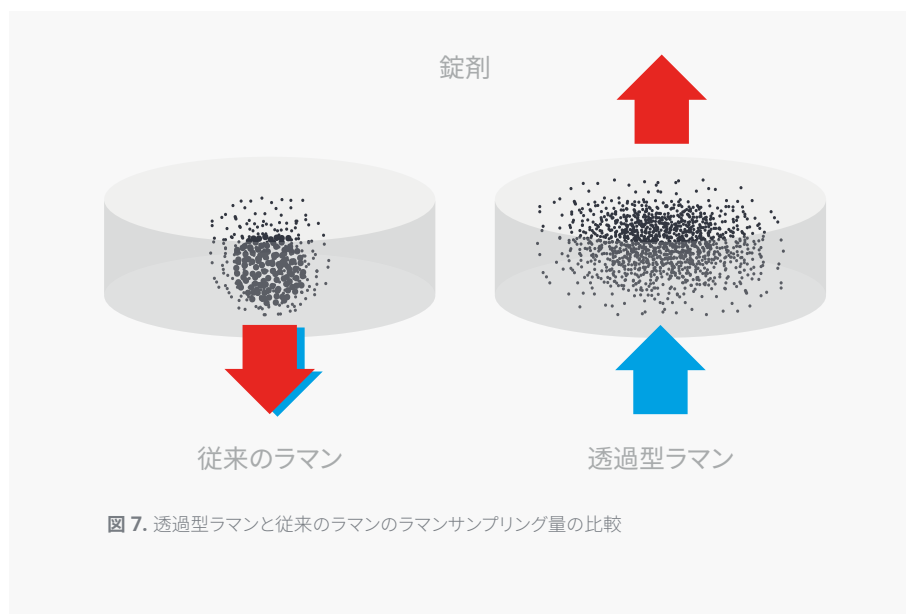
ラマン分光分析は振動分光分析技法です。取得したスペクトルにより、分析対象の化合物の化学的指紋が得られます。ラマンスペクトルは、シャープで独特なピークを示します。これらのピークは、官能基グループの分子振動に相当します。

医薬品のラマンスペクトルは複雑で、通常はそれぞれの成分に多数のラマンピークがあり、それらの数と強度を組み合わせることでサンプル全体のスペクトルを生成します。ラマン特性に加え、スペクトルが蛍光寄与を示す場合もあります。蛍光は、基盤となる、より幅広いシグナルによって特徴付けられた、レーザー照射に対するサンプルの付加的な反応です。図 6 を参照してください。

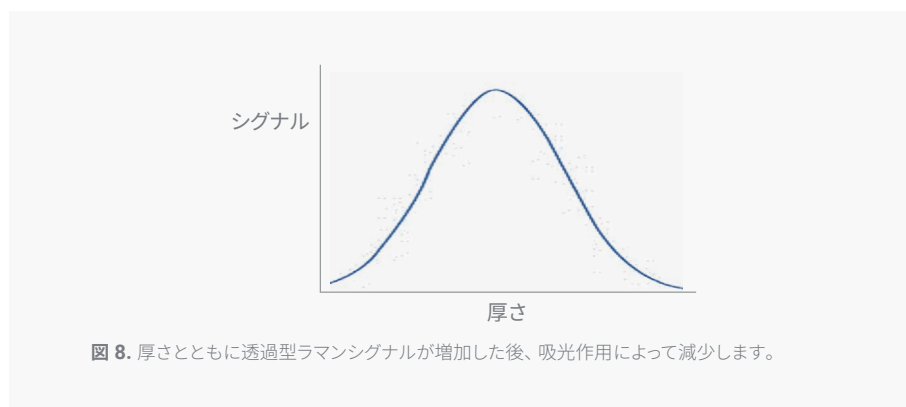


透過型ラマン分光分析は、光を散乱させる材料による測定方法です。例えば医薬品の錠剤など、材料は多くの場合、不透明です。レーザーは検出器に対してサンプルの反対側に位置し、材料のバルクからラマンシグナルが収集されます。従来のラマン機器、ベンチトップ、プローブ、ハンドヘルド装置は後方散乱配置で稼働し、シグナルが収集されるのと同じ側で、サンプルにレーザーが照射されます。

後方散乱ラマンは比較的強いシグナルを生成しますが、シグナルは表面に偏在します。透過型ラマンでは、サンプル全体の散乱損失によりレスポンスが弱いですが、材料のバルク全体でシグナルが生じます。図7は、レーザー光がサンプル内で散乱する際の透過型ラマン光子の生成を示しています。これは、厚みのあるサンプルを測定する際に有用です。



検出器によって測定される透過型ラマンシグナルの量は、サンプル量、厚さ、散乱プロセスなどによって変化します。吸光メソッドとは異なり、TRSにおいて厚さに対するラマンシグナルの強度は、約2～3mmのサンプル厚さで最大シグナルを示します。直感に反するこのような結果は、弾性および非弾性のラマン散乱のバランスによるものです。[4]



透過型ラマンの詳細については、[5-7]を参照してください。

2.2 ケモメトリックス

ケモメトリックスは、データに基づく手法により化学システムから情報を抽出する科学です。ケモメトリックスは本質的に分野横断的であり、多変量統計、応用数学、コンピュータサイエンスなど、中核的なデータ解析分野でよく採用されているメソッドにより、化学、生物化学、薬学、生物学、化学工学の問題に対応します。Wikipedia [8]

ケモメトリックスは当初、数学、統計、形式論理を採用したその他のメソッドを用いる化学分野として定義されており、次の 2 つの目的の達成を目指していました。(1) 最適な測定手順および実験を設計または選択する。(2) 化学データを分析することで、適切な化学情報を最大限に提供する。さらに具体的に言うと、「ケモメトリックス」は、化学や関連データの解析を対象とした、多変量 (multivariate) メソッドのアプリケーションを意味するようになりました。ただし、その起源に関わらず、ほぼすべての測定されたデータから情報を抽出するために、対象のアルゴリズムが使用される場合があります。

USP <1039> ケモメトリックス [9]

医薬品の透過型ラマンスペクトルは複雑で、スペクトルには、成分の複雑な混合物に関連する多数のピークと特性が含まれます。HPLC は、API のレスポンス (通常は UV) のピーク面積を測定する分離方法です。これは単変量 (univariate) 手法です。

「Uni」= 1 つ 「Multi」= 多数

ラマンスペクトルには、サンプル中の各ラマン活性化化合物の多数ピークが含まれ、それらのピークがオーバーラップすることで、複雑かつ豊富な情報をもたらす解析の開始点が示されます。ケモメトリックス (多変量解析) により、この複雑なデータタイプに対し、デコンボリューション/傾向分析/解析を行うことができます。

一般的な多変量手法

モデルタイプ	説明
PLS : 部分最小二乗法	定量モデル – TRS100 メソッド開発の主要な手段
PCA : 主成分分析	データに固有のパターンや傾向に注目する定量ツール
PCA : 主成分分析	最も有力な分類を返す分類モデル

詳細については、[10、11] を参照してください。

2.3 単位

CU 試験では、個々のアッセイ結果を %LC (表示値) で表し、次にそれを含量均一性試験の判定値 (AV) の計算に使用できます。

透過型ラマンスペクトルの場合、絶対スペクトルシグナル強度は、材料の量と厚さに応じて変化します。API の濃度を測定するために、ラマンスペクトルは相対強度に対して正規化されます。サンプルの %w/w を測定します。TRS で通常は、ラマンスペクトルの相対的な変化のみに注目します。

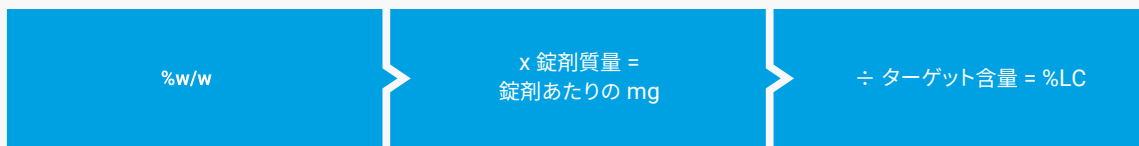


図 9. TRS メソッド開発の単位は %w/w です。これは、錠剤の質量で乗算すると含量が、ターゲット含量で除算すると表示値 (%LC) が得られます。

3.ステップ 1：実現可能性 - 最適な候補物質を見つける

実現可能性とは、全面的なメソッド開発に取り組む前に適切な候補物質を見つけることです。

3.1 良いサンプルとは

TRS による定量分析に関しては、他のサンプルよりも最適なサンプルがいくつかあります。重要な要素は、どの程度サンプルがレーザーを広く散乱させ（弾性散乱）、ラマンシグナルを生成するか（非弾性散乱）、ということです。

錠剤は良好に機能します。バルクサンプルの中でレーザー光を広く散乱させ、大容量のサンプルからラマンシグナルを生成します。通常、同じ種類の錠剤は、サイズと密度の一貫性が非常に高いです。

コーティングは、コーティングされていない中心部と比較して、取得されるラマンシグナルの量に影響を及ぼす可能性があります。材料の余分なレイヤーがレーザー光を吸収し（特に、赤/紫など強く着色されている場合）、非常に厚みのあるサンプルでは光路長が長くなり、ラマンシグナルが減少する可能性があります。

粉末とカプセルは非常に有効です。このような粉末ベースのサンプルは、粉末がカプセル/袋/バイアル内で移動し、サンプル量が変わる傾向があるため、サンプル間の絶対ラマンシグナルが変化する可能性があります。このような変動、スペクトルの前処理中に正規化によって処理されます。

懸濁液や透明な液体は、TRS に最も適さない種類のサンプルです。レーザーが液体サンプル中をまっすぐに通り、光が散乱し、ラマンシグナルが生成される可能性が制限されます。成功の可能性は、サンプルにも依存します。例えば、純粋な溶媒や物質は良好に機能する可能性が高いですが、水溶液は、水のために困難です。

水のラマンスペクトルの周波数は賦形剤や API よりもはるかに高く、実質的に無視してもかまいません。ただし、サンプル成分における水の影響は評価し、検討する必要があります。

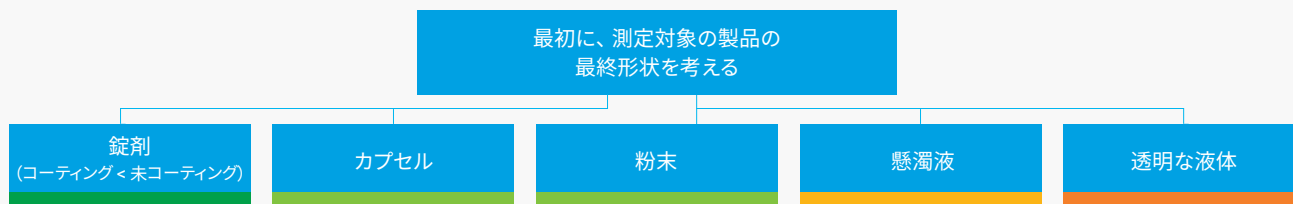


図 10. 異なる医薬品の種類に関する透過型ラマンの成功のための概略図

3.1.1 スキャン対象の医薬品の含有物質

次の考慮事項は配合です。TRSの検出限界は、APIに対して約1%w/wです。当然、これはアプリケーションに依存し、0.2%w/wに近いLOQが報告されています[12]。一般的に、APIはラマン散乱が優れています。より優れたいくつかのAPIもあり、APIが本質的に蛍光性を有する場合もあります。APIの配合が多いほど、より簡単にモデル化できます。

ラマンシグナルの大部分がAPIで占められた場合、賦形剤を確認するのがより難しくなります。TRSでは、製剤全体における%w/wを測定するため、1つの成分の定量は他の成分の量に関連しています。したがって、APIと賦形剤の比率の測定が関連するため、賦形剤も定量可能です。賦形剤が少量で、API含量が高い製剤は、困難なアプリケーションになる場合があります。

バルク賦形剤も、APIの%w/wの確認、測定、定量化できる程度に影響を及ぼします。一般的に、主にセルロースベースの賦形剤の蛍光性により、セルロースよりもラクトースベースの製剤の方がより有効に機能します。

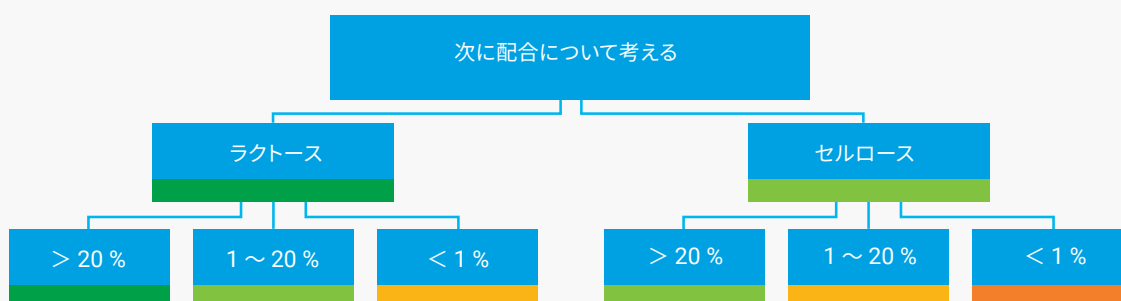


図 11. 製剤の成功、主な賦形剤の検討、APIの%w/wの概略図

注：

袋に入った粉末サンプルの場合、袋に均等に充填し、塊を取り除くことを推奨します。均質な粉末層が最良です。1インチの2バッグの容量は、約100～700mgです。

同じ質量の材料で袋を充填することにより、それぞれの賦形剤およびAPIのラマン散乱能力をより簡単に判断できます。

このような情報をすべて考慮すると、スキャンで確認することが、成功を評価するための最良の方法となります。これは簡単に行うことができます。

3.2 適切なサンプルを見つける

最終的な結果のために、スキャンと確認の手法によって、これまでの推測に対する回答が得られます。

「最終製品に含まれるAPIを確認できますか」という問いに回答するには、最終製品、APIおよび賦形剤のラマンスペクトルを分析する必要があります。



注：

この早い段階において、純粋成分スペクトルを保存して印刷し、最も一般的な医薬品成分の主なピークを調べて認識しておくことを推奨します。

3.2.1 例：賦形剤と最終製品のスキャン

図 12 の例は、純粋な API、賦形剤、最終製品をスキャンすることによって予測されるものを示しています。この API スペクトルは標準的で、ほとんど蛍光のない、明確でシャープなピークが示されています。約 1600 ~ 1800 cm⁻¹ のピークは、カルボニル C = O または芳香族ベンジル基の特徴を示すものです。通常、このような化学的機能は多くの場合に、賦形剤ではなく API に存在します。したがって、1600 ~ 1800 cm⁻¹ の領域は、API の特性がスペクトルに確認されるかどうかを判断するための、医薬品サンプルの簡単な同定手段として使用できます。

L-HPC や MCC など、セルロースベースの賦形剤は蛍光性を有しています。ラクトースは、ラマン散乱に適しており、明確でシャープなピークを示します。

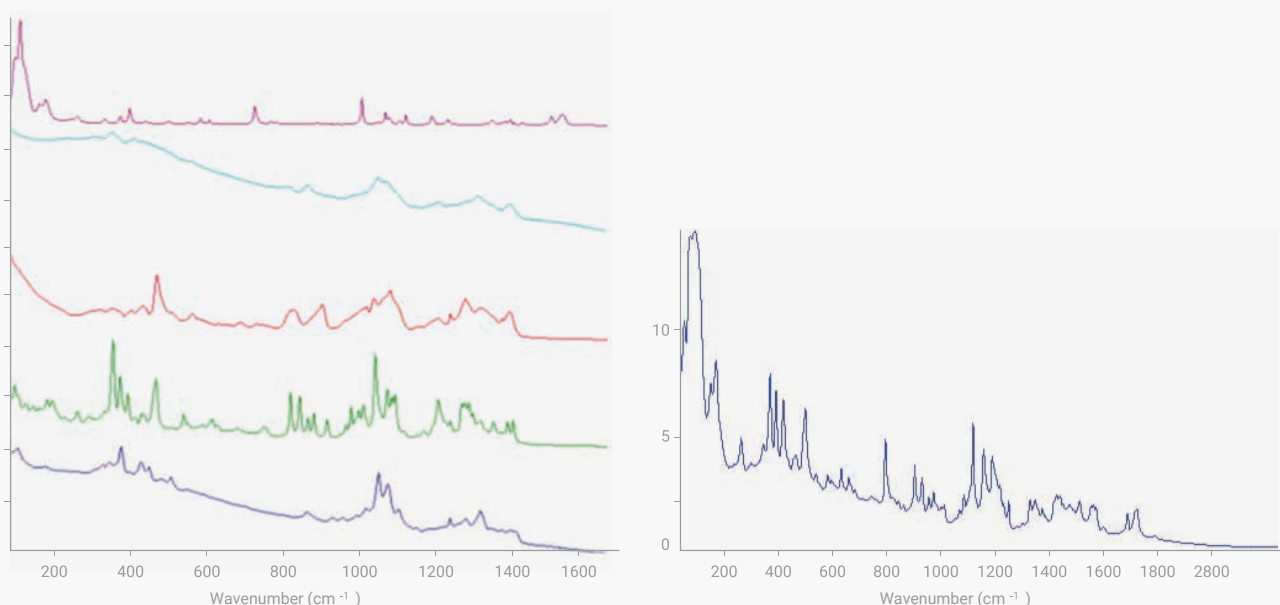


図 12. 純粋成分スペクトル、最終製品、錠剤スペクトルの例。錠剤スペクトルの API ピークに注目し、最終製品の API を同定します。

注 - スパイク試験：

スパイク試験は、堅牢なキャリブレーションでは**ありません**。スパイク試験は、実現可能性のみに使用します。スパイク試験では 1 つの物質のみが変化するため、範囲と実用可能性において限定的です。

3.2.2 例：スパイク試験

上記の例は特に注目すべき点はありませんが、錠剤のスペクトルに API が明確に観察されます。API ピークがはっきりと確認されない場合、賦形剤にオーバーラップがある場合、どのピークがどの物質由来のものか区別するのが難しい場合、どうしたらいいのでしょうか。

スパイク試験によって、ある程度の回答が得られる可能性があります。

1 つの手法として、

図 13 および 図 14 の成功例で示されているように、例えば 10 個の錠剤など、最終製品を乳棒と乳鉢を使用して粉碎し、適度な濃度範囲でいくつかの API にスパイクすることが可能です。

3.2.2.1 成功例：スパイク試験

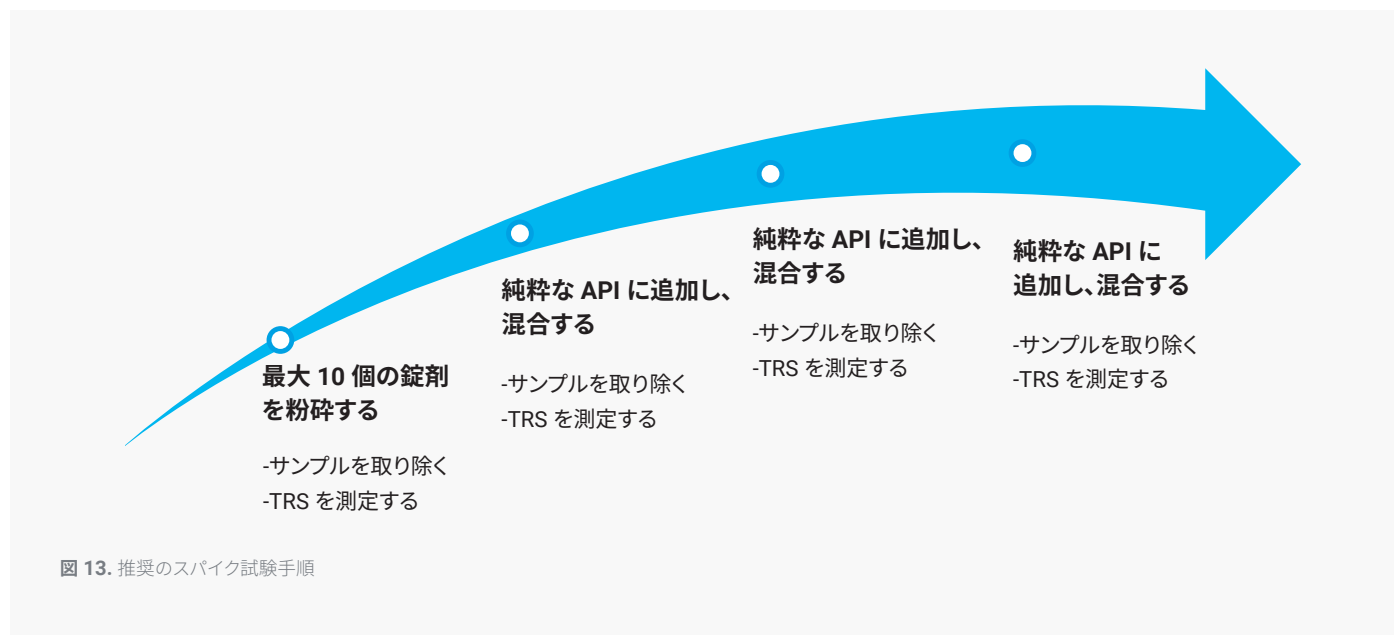


図 13. 推奨のスパイク試験手順

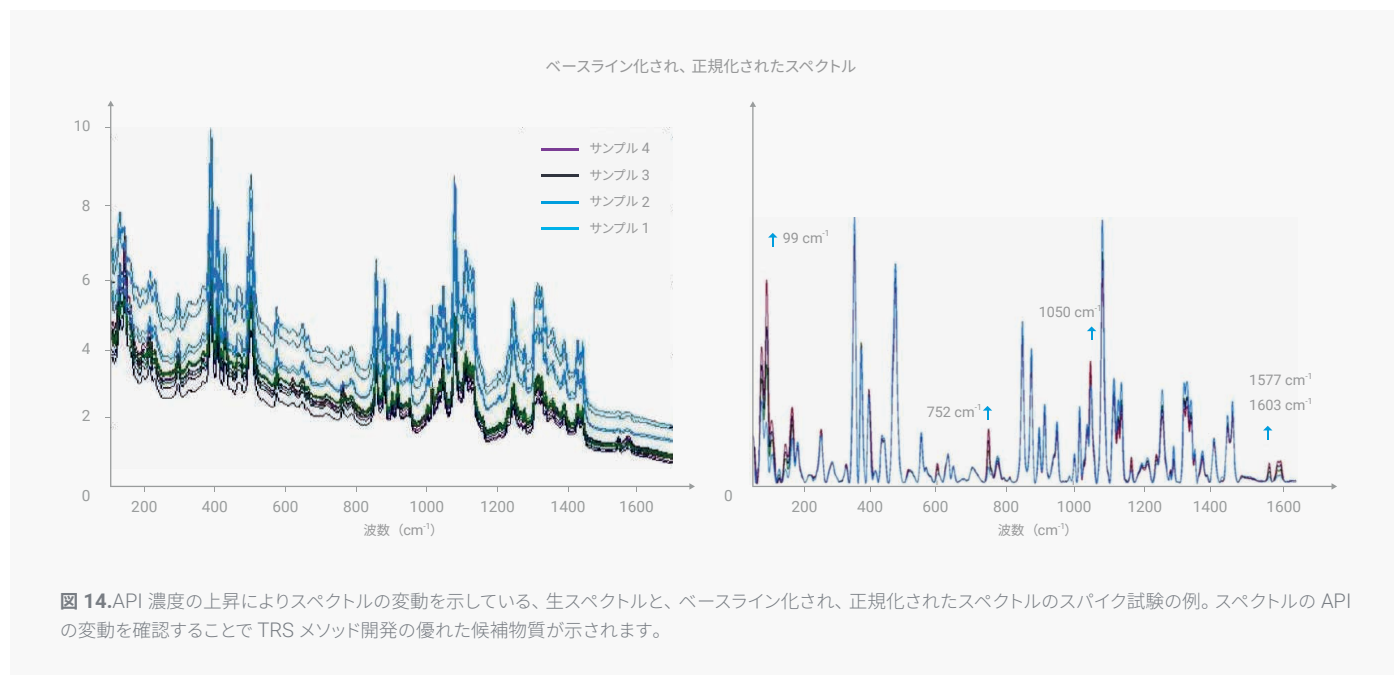


図 14. API 濃度の上昇によりスペクトルの変動を示している、生スペクトルと、ベースライン化され、正規化されたスペクトルのスパイク試験の例。スペクトルの API の変動を確認することで TRS メソッド開発の優れた候補物質が示されます。

3.2.3 その他の考慮事項

それぞれのアプリケーションは微妙に異なり、スキャンの際に異なる考慮事項が必要になる場合があります。下記にサンプル固有のいくつかの考慮事項を示します。

- サンプル前処理：
 - 錠剤
 - 通常は錠剤の中心部をスキャンすることが推奨されます。
 - ティアドロップ形状の錠剤では、錠剤の最大容量部分である中心部以外がスキャンされる可能性が高いです。
 - エンボス加工/印刷は測定に影響を及ぼす可能性があります。測定を開始する側を決定します。
 - 二層の錠剤 – 一貫性のある測定のために、測定を開始する側を決定します。
 - カプセル
 - 端部 – 両端をスキャンして作用を調べます。
 - 中心部 – カプセルの 2 つの層を貫通します。
- スキャン位置の数
 - 通常は 1 つのスキャン位置が推奨されます。
- 大用量 - 複数の位置でスキャンし、バルクを代表している安定したシグナルを確保します。

4.ステップ 2：キャリブレーション

キャリブレーション段階の目的は、未知のサンプルを予測できるキャリブレーションモデルを構築することです。このキャリブレーションは、バリデーション段階で検査されます。

4.1 サンプルの作成

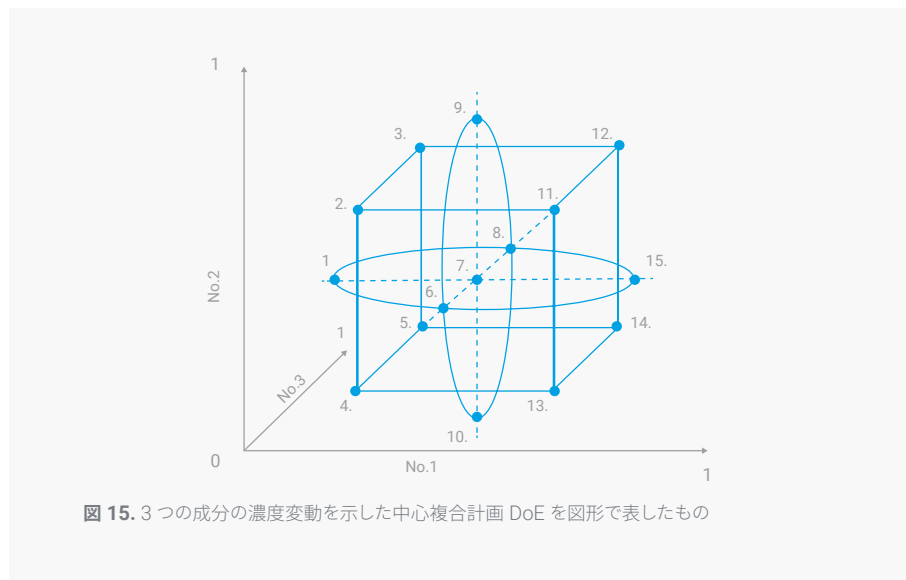
キャリブレーションは分析科学でよく使用される用語です。既知の値セットであり、これにより、未知の値と比較するための測定スケールが提供されます。

キャリブレーションでは、HPLC により、参照標準中に既知の量の対象化合物（クロマトグラフィーにより他の成分から分離されている）を含むサンプルを使用し、測定されたサンプル中の未知量の化合物のピーク強度と比較します。

ラマンなどの分光分析技法を用いて、医薬品に含まれる成分の複雑な混合物を測定します。他の製品の成分から分離できないため、キャリブレーションサンプルは、最終製品とそのすべての成分を代表している必要があります。**各成分の濃度は相互に関連しているため、すべての成分の変動が必要になります。**

個々の成分が他の成分とは関係なく変化する、実験計画法（DoE）手法が推奨されます。この手法では、堅牢なデザインスペースが作成され、対象の製品は中心に配置されます。堅牢性に優れたモデルは、生産における可変要素の小さな変化の影響を受けません。これは、クオリティ・バイ・デザイン（QbD）メソッドの開発と提出を経験したことがある人にはよく知られています。

一般的に、DoE では 8 から 25 のサンプルを使用します。4 つの変要素が変化する DoE は、立方体によって視覚的に表すことができます。これは、中心複合計画として知られています。変要素には、API#1、API#2、excipient#2 と、質量バランスとして使用されるメインの excipient#1 があります。微量成分の賦形剤の混合物など、1 つの変要素は、単一成分の組み合わせである場合があります。製品と分析対象サンプルはサンプル 7 で表され、これらは図 15 の中心に位置しています。



例えば API など、1 つの成分のみが変化するキャリブレーションサンプルセットでは、非常に狭いデザインスペースが形成されます。これは実現可能性に対しては問題ありませんが、他プロセスの変要素の小さな変化の影響を受けます。この手法は、堅牢なキャリブレーションサンプルデザインには**推奨されません**。

4.2 DoE の判断 DoE 決定木

DoE のタイプに対し、遵守しなければならない既定のルールはありません。この場合も、アプリケーションに依存しているということが、この手法全体において唯一の既定ルールです。

役立つ可能性がある意思決定プロセスを下記に示します。

注：モデル性能に応じて、より多くのサンプルをキャリブレーションに追加できます。これは反復的なプロセスで、結果に基づいてキャリブレーションを修正できます。また、時間を節約するために、すべて、または大多数の必要なサンプルを、一度に作成する方が簡単である場合もあります。

複雑な製剤の場合、図 16 に示されているように、より少なく弱いラマン有効成分を「あらかじめ用意された混合物」に加えることで、分注に必要な個々の成分の数を減らし、少量の材料の計量におけるエラーを軽減できる可能性があります。

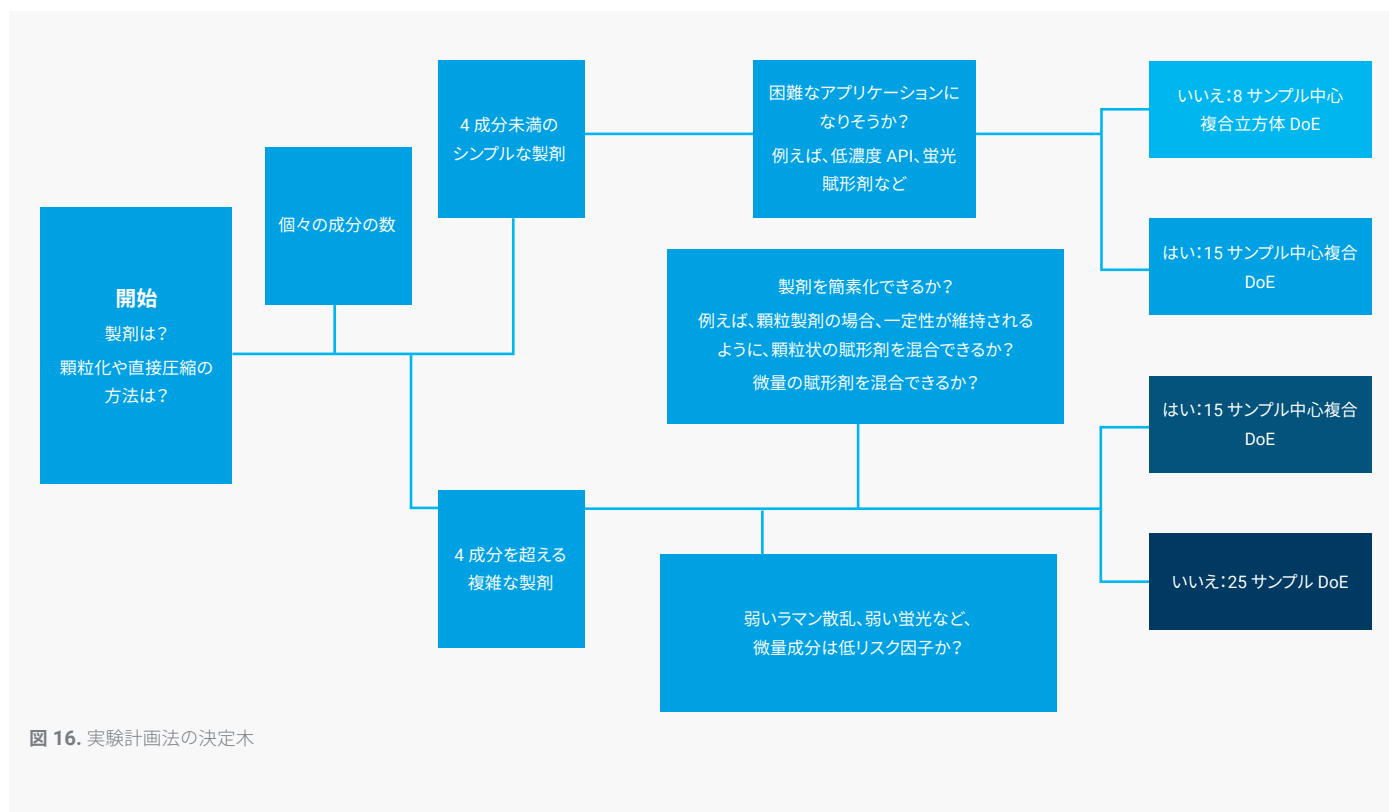


図 16. 実験計画法の決定木

4.3 サンプルの作成

最高のキャリブレーション性能は、キャリブレーションサンプルが予測対象のサンプルに非常に近い場合に得られます。サイズや形状などの製剤の要素、圧縮力や粒子サイズなどのマトリックス効果が関わる可能性があります。繰り返しますが、既定ルールは存在せず、それぞれのアプリケーションには、重要な可変要素の異なるセットがあります。

4.3.1 錠剤へと圧縮する前の粉末のスキャン

キャリブレーション粉末混合物を作成した後、錠剤化する前に、TRS でこれらの混合物をスキャンすることは、サンプル前処理の成功について「確認する」ための迅速な手段となります。各スキャンは 10 ~ 60 秒で済み、錠剤化前にこれを行うことが有益となる可能性があります。

結果として、より多くのキャリブレーションサンプルが必要であったり、粉末が均一に混合されていないかたりすることが示される可能性があります。

4.3.2 バリデーションについて前もって考えておく

サンプルを分注し作成する場合は、この作業をバリデーションサンプルの作成と組み合わせてもかまいません。多くの場合、このプロセスを別にする必要はありません。

サンプル前処理の信頼性を検証し、バリデーション基準の一部として精度を示すために、同じ濃度の繰り返しサンプルを作成することを推奨します。

4.4 考慮すべきその他の要素

それぞれの医薬品やプロセスは独特であるため、ラマン分析の結果の質に影響を及ぼす危険因子について検討することが重要です。そのような危険因子の一部を図 17 に示します。[13]

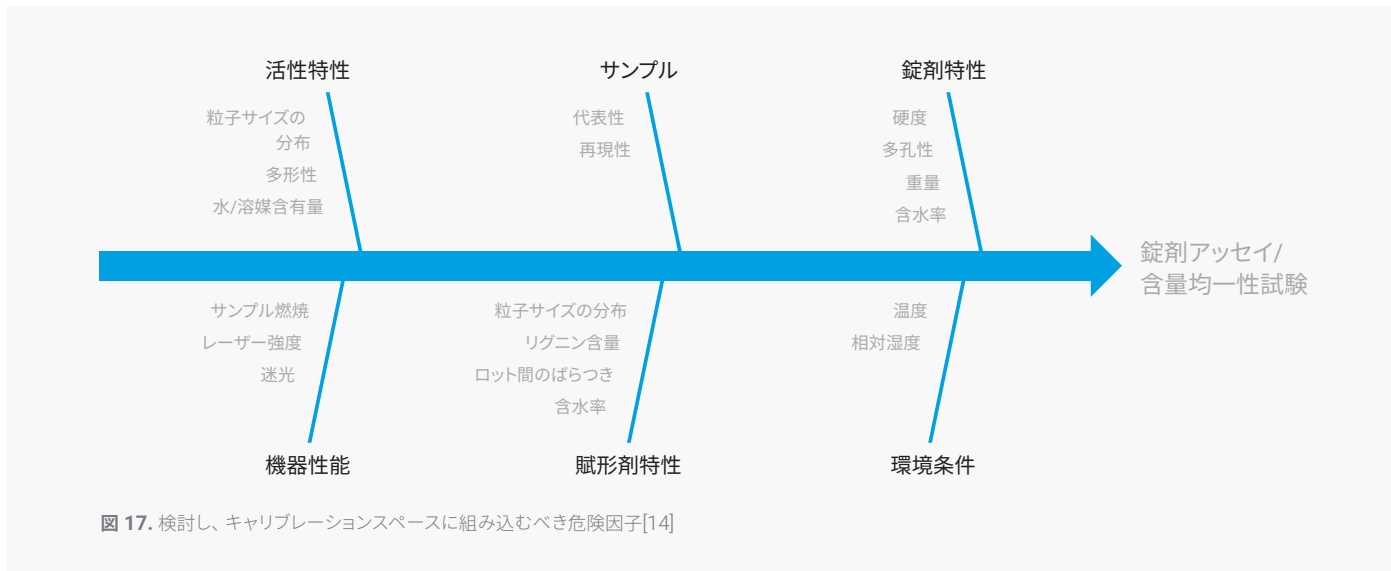


図 17. 検討し、キャリブレーションスペースに組み込むべき危険因子[14]

4.5 サンプルの測定

上質のスペクトルは、より上質のケモメトリックモデルをもたらし、ひいては、より優れた結果を提供します。このセクションでは、取り込みパラメータと推奨の選択肢について説明します。

4.5.1 サンプルのスキャン方法

サンプルをスキャンする際に考慮すべき 2 つの要素があります。(1) レーザースポットサイズやレンズコレクションの選択などの光学系設定 (2) レーザー出力、スキャン時間、反復スキャンなどの取り込み設定。

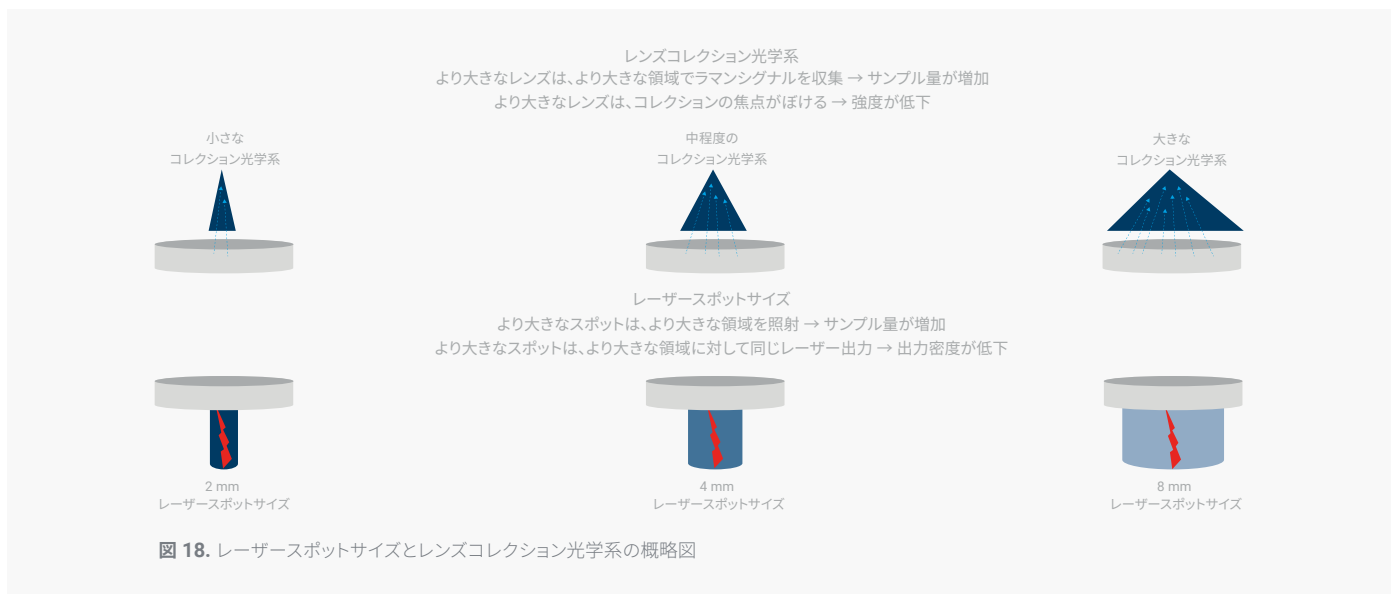
4.5.1.1 光学系設定

TRS100 ユニットでは、レーザースポットサイズやレンズコレクション光学系を変えることができます。図 18 を参照してください。

レーザースポットサイズのオプションには 2 mm、4 mm、または 8 mm があります。各スポットサイズの出力は同じですが、出力密度は異なり、2 mm レーザースポットは 8 mm よりも強力です。レーザースポットサイズを変更すると分析されるサンプルの容量が変化し、スポットサイズが大きいほど、破損しやすいサンプル（例えば、赤いゼラチンカプセルは、2 mm スポットサイズで溶解する可能性があります）に対するレーザー強度が低減されます。

使用可能なレンズコレクション光学系には、小、中、大があります。光学系のサイズが大きくなると、分析サンプルの領域も大きくなります。サンプル照射が錠剤の境界から外れないよう、レーザーとレンズ光学系の設定の変更は、分析サンプルのサイズとタイプと合わせる必要があります。

レンズとスポットサイズの効果は、メソッド開発プロセスの一環として調査を行う必要があります。経験的に、4 mm レーザースポットサイズと中サイズの光学系が、ほとんどの錠剤とカプセルに有効であることが示されています。また、異なるサンプルポジションでの複数の取り込みを行うことにより、有効なサンプリング量の増加に役立つ可能性があります。



4.5.1.2 取り込み設定

TRS100 の最大レーザー出力は 650 mW で、必要に応じてソフトウェアで低減できます。カメラの露光時間と蓄積数もソフトウェアで設定でき、ガンマ線アーチファクトを回避するために必ず複数の蓄積を含めます。

検出器の飽和限界は、1 つの蓄積につき約 65,000 カウントですが、最大動作範囲を使用することは避け、取り込み設定を最適化の際に次のワークフローを使用して動作範囲をおよそ 40,000 カウントに限定することを推奨します。

- 0.65 W で 1 秒間、1 つの蓄積でサンプルをスキャンします
- スペクトルを観察します
- 露光時間を設定します
 - 40,000 カウント未満の場合は露光時間を長くします
 - 40,000 カウントを超える場合は露光時間を短くします
 - 0.01 露光時間で 40,000 カウントを超える場合は、レーザー出力を低減します
 - 適切な露光時間で約 40,000 カウントが得られるまで手順を繰り返します
- 蓄積数を増やします
 - 3 を超える必要があります
 - 合計スキャン時間（露光 x 蓄積）の良好な推定値は、ほとんどのサンプルで約 10 秒です
 - 最適な蓄積数は、常にアプリケーションによって異なります
 - 10 秒間測定し、S/N 比を観察し、約 60 秒で再スキャンし、大幅に改善されているか確認するのが有効となる場合があります
 - 異なる蓄積数で取得されたデータのモデル性能により、S/N 比がモデルスペースを制限しているかどうかを示される可能性があります。

4.5.1.3 飽和に関する注記

ラマンピークは通常、より少ない波数領域で強くなります。これは検出器の効率（量子効率または QE）、または光子を電子シグナルに変換するカメラの性能によるもので、より高い波数ではより弱いラマン強度が観察されます。

医薬品における対象のラマンピークは、約 1600 ~ 1800 cm^{-1} のより高い波数で特徴的なピークを示すことが非常に多くあります。予測モデルで動作範囲内のシグナルのみが使用されている限り、より高い波数領域で S/N 比を向上させ、API ピークを「確認」するために、露光時間を長くして、より低い波数領域を意図的に飽和させることが許容される場合があります。

検出範囲がより高いものの、40,000 カウントを超えるスペクトル強度は、検出器の反応が非直線となり、モデル構築と予測においてエラーが増える可能性があるため、回避します。スペクトル範囲は、モデル構築プロセスで選択できます。

飽和限界は、Y 軸強度補正/グリーンガラス補正が適用されていない生スペクトルで観察する必要があります。

4.5.1.4 繰り返しスキャン - 光退色に関する注記

蛍光とは、レーザー照射を受けた医薬品サンプルの相反する発光プロセスです（セクション 0）。繰り返しスキャンされると、蛍光成分の蛍光強度が連続的に低下する場合があります。このような作用は光退色と呼ばれます。この作用がラマン測定とモデル予測に影響を及ぼす可能性があります。光退色を軽減し、抑制するための方法があります。例えば、モデルに同じサンプルの複数の測定値を含めることで、モデルに対し、光退色の作用を認識するよう訓練することが可能です。

ソフトウェアのリピートポケットとリピートトレイ機能は、このような分析に役立ちます。

4.5.1.5 繰り返しスキャン - 均一性のスキャン

同じサンプルで複数の箇所をスキャンすることが可能です。これにより、サンプルのスペクトル均一性を確認できます。これは、粉末混合物の均一性に関するアプリケーションや、該当のアプリケーションで凝集の問題が確認されている場合に、特に役立つ可能性があります。この手順を、実現可能性戦略に組み込むことも可能です。

4.6 モデルの構築

ケモメトリック分析やモデル構築を専門的に扱った多数の教科書や講義があります [3,10,11]。ここでの目的は、該当の作業を再現することではなく、透過型ラマンメソッド開発プロセスの一環と見なされる最も一般的なワークフローおよび判断を要約することにあります。

DoE とサンプルの選択肢を作成するために製剤について検討してきたこれまでのセクションから、実現可能性のためのスキャンは、キャリブレーションとバリデーションのための DoE の判断に役立つ可能性があります。いずれにしても、モデル構築は反復的な作業であり、結果として、より多くのサンプルを作成する/含めることになる可能性があります。

モデル構築プロセスの成果は必ずしも固定的ではありません。科学的に有用であることを前提に、含まれる、または除外される新しいデータによって、変更、更新、または修正することが可能です。時間とコストの浪費を回避するために、キャリブレーションとバリデーション測定、サンプル前処理は多くの場合に、まとめて実施することができます。

一般的な注意として、TRS データは、形状と構造において NIR データとは異なります。ラマンピークは一般的にシャープで、それぞれの成分に対し非常に特異的です。NIR のキャリブレーションモデルの構築を体験することは、必ずしも TRS のための最良のアプローチではなく、NIR の原則を TRS データに適用する際には注意が必要です。

4.6.1 モデルの構築方法

4.6.1.1 サンプルの選択

モデルに含まれるサンプルは、前のセクションのガイダンスに従い、測定/予測対象のサンプルを表すものであり、QbD/DoE の原則に準拠している必要があります。

用語：

- モデルにロードされるスペクトルは X ブロックになります。
- モデルにロードされる濃度は Y ブロックになります。

注：

複数の Y ブロックをロードし、1 つのモデルで複数の成分を予測することは可能です。

4.6.1.2 スペクトル領域の選択

モデルに含めるスペクトル領域については、複数の選択方法があります。スペクトルの選択は、スペクトル全体である場合も、より小さな対象の領域である場合もあります。飽和領域は、必ずモデル構築プロセスから除外します。TRS100 の限度は、1 つの蓄積につき 40,000 カウントです。スペクトル領域の選択は、変更を実行>モデルの構築>結果への影響の確認>変更の実行の反復的なプロセスに従ってもかまいません。

推奨のプロセス：

- フルスペクトル領域から開始します。
- 「上部とテール」：通常 200 cm⁻¹ 未満は飽和状態、通常 1900 cm⁻¹ 超にラマンピークは含まれません。
- 次に、API および賦形剤がある主要な領域に注目します。定量に %w/w が使用されるため、API と賦形剤の両方が表されていることが重要です。最低でも 2 つ（理想的にはそれ以上）のラマン有効成分間の比率が必要です。

4.6.1.3 ケモメトリック前処理の選択肢

前処理には、モデル性能を最適化するためにスペクトルデータを扱うことが伴います。前処理では、API 濃度の変動など、目的のスペクトル差を最大化し、厚さなど、その他の影響する因子を最小化します。

透過型ラマンスペクトルの場合、通常 3 つの前処理ステップを実施します。

免責事項：

これは規範的なものではないため、異なるアプリケーションでは、最高の性能を得るために異なる選択肢が必要になる場合があります。また、複数の前処理オプションによって、同様のモデル性能がもたらされる可能性もあります。1 つの最高のオプションではなく、複数の選択肢となる場合もあります。

注：スペクトル

前処理のヒント

API 濃度に従い、ベースライン化され、正規化されたスペクトルと色をプロットすることで、スペクトルの変動を視覚化し、純粋成分スペクトルを比較することを推奨します。

API 濃度と関連しているスペクトル帯域化を視覚化できる場合は、アプリケーションが成功することを強く示しています。

ステップ 1：ベースライン設定

概して関心対象ではない蛍光バックグラウンドを削除します。例えば、Whittaker ベースライン設定、一次導関数、二次導関数などです。

ステップ 2：正規化

%w/w の変動に関心があるため、一般的な相対強度の変動を削除します。これにより、サンプルの厚さなどによる差が最小化されます。例えば、正規化、SNV、MSC など。

ステップ 3：平均中心化

これは多くの場合にラマンデータに適用されます。各スペクトルから全体的なデータセットの平均値を削除します。これにより、共通の特性が削除され、差が残ります。

4.6.1.4 潜在変数の数

モデル構築プロセスにおいて、モデルを構築するための潜在変数の数を変更できます。

潜在変数 = 主成分 = 因子多くの場合に用語は同じ意味で使用されます。

潜在変数は、所定の濃度 (Y ブロック) をスペクトル (X ブロック) に関連付けるためにモデルで使用されるスペクトル反応です。潜在変数は、測定化合物のスペクトルと明確に関連します。これは、例えば、成分が必ずしも明確に分離されない近赤外線 (NIR) 分光分析に対し、TRS の明らかなメリットです。

過剰な適合を防ぐために、できるだけ少ない潜在変数を使用します。多くの場合に潜在変数は $N + 1$ 以下とします ($N = \text{DoE}$ で変化する因子の数)。この場合も、TRS の特異性が NIR よりもメリットとなります。

キャリブレーションモデルに潜在変数が多いほど、測定ノイズがモデルに組み込まれるため、見かけの性能がより向上します。ただし、おそらくは、モデルが新しい個別のサンプルを予測する性能は損なわれます。この点は、モデルバリデーションと個別のサンプルで検査されます。

4.6.1.5 モデルオプティマイザ

このガイドの情報からお分かりになるように、モデル構築は繰り返しの多い、反復的な作業です。ケモトリックソフトウェアパッケージ内にこのモデル最適化プロセスを加速するツールがあります。優れた科学的判断でモデルのアウトプットを解釈し、数値的なアウトプットだけに依存しないようにするためのベストプラクティスは、簡単に言えば、実行していることが科学的に理に合っているかを確認することです。

4.6.1.6 クロスバリデーション

クロスバリデーションは、キャリブレーション段階で発生するプロセスで、通常はケモトリックソフトウェアパッケージで自動化されています。クロスバリデーションには、含まれた/除外されたサンプルのさまざまな繰り返し処理によるモデル構築と、該当のモデルが残りのサンプルをどのように予測するかの確認が含まれます。その目的は、サンプルを追加したり削除したりすることで、モデルの堅牢性を検査することにあります。

この作業のために使用可能な多様なアルゴリズムがソフトウェアにありますが、通常はデフォルトのオプションで十分です。

4.6.1.7 十分であるとは

可能な限り最高のモデルを求めて取り組んでいる場合、簡単に終了点を判断できないことがあります。いつでもモデルに微調整や修正を加えることが可能であるからです。目指すべきは、自分の試験要件を十分に満たす、堅牢性と信頼性に優れたモデルを獲得することです。モデル統計は、この意思決定プロセスの一部です。個別のサンプルを使用したモデルのバリデーションにより、モデル開発を完了させ、バリデーション基準に対して検査することができます。

バリデーションサンプルを分析した後に、物理的なサンプル、測定値、既存データによるモデル再構築のいずれかにより、キャリブレーションプロセスを見直すことはいつでも可能です。

4.6.2 モデル性能を解釈する方法

ケモメトリックモデリングのアウトプットにより、解釈すべき多数のグラフや数字が提供されます。主要な要素は次のセクションで説明します。

4.6.2.1 モデル統計

図 19 にモデル性能を表す重要なグラフを示します。このプロットは、インポートされた Y ブロック (濃度) と、モデルによって生成された「予測」値に従い、サンプルの「測定」値を示しています。これらの 2 つの間の直線近似は、モデルが所定の濃度に対しスペクトルを適切に関連付けていることを示しています。この測定値は R^2 です。通常、0.95 を超える R^2 は良好な値と見なされます。

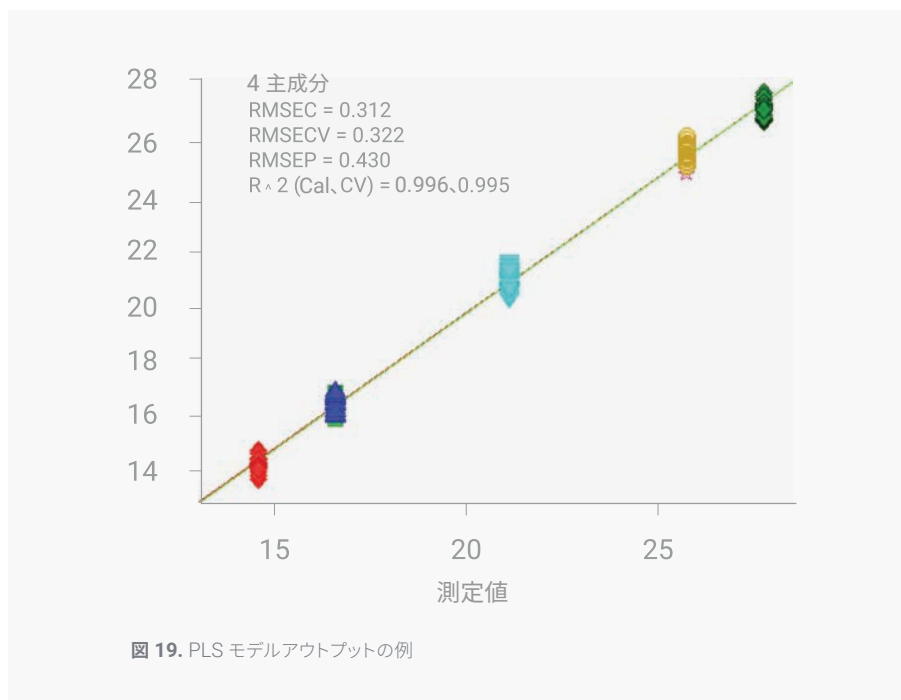
二乗平均平方根誤差の値 (RMSE) はモデル誤差の指標です。

RMSEC : キャリブレーションの二乗平均平方根誤差

RMSECV : クロスバリデーションの二乗平均平方根誤差

RMSEP : 予測の二乗平均平方根誤差 (個別のバリデーションサンプルのみで取得)

RMSEC と CV は低く、ほぼ同じである必要があります。RMSEC \approx RMSECV である場合、キャリブレーションサンプルを削除すると、モデルがキャリブレーションサンプルを確実に予測できることを示しています。



ホテリングと Q 残差は、キャリブレーションサンプルセット内でモデル性能とサンプル品質を判断するのに使用されるその他のモデル統計値です。この 2 つの統計値は、キャリブレーションスペースにおけるサンプルの関係/類似性を説明します。図 20 を参照してください。

ホテリング：極度の成分濃度など、キャリブレーションスペースにすでにある情報に対するサンプルの関係を説明します。

Q 残差：例えば、キャリブレーションに確認されない特性（例、未知化合物のノイズ）など、キャリブレーションスペースにない情報に対するサンプルの関係を説明します。

ほとんどのキャリブレーションサンプルがキャリブレーションスペースの 95 % に収まり、外れ値が許容範囲内で、それらが中心の濃度点でないことが推奨されます。これが期待されるのは、DoE の一部として、すべての成分の濃度がターゲット中心点とは異なるからです。

ホテリングと Q 残差のプロットは、すべてのサンプルまたは各サンプルのスペクトル外れ値を特定する優れた手段となります。良好なサンプル前処理とデータ取り込みにより、同じ DoE サンプルクラスタリングから、同じ錠剤の個々のスキャンが示されます。サンプル排除のために推奨される方法は、例えばサンプル X はもろく、壊れやすいなど、十分に正当化される必要があります。これは、非常に低濃度の賦形剤 X を含むサンプル X は、DoE の端に位置しているからです。サンプル X のスペクトルはホテリングにおいて外れ値だったため、これらは製品品質の錠剤を代表しておらず、モデルスペースから除外されました。

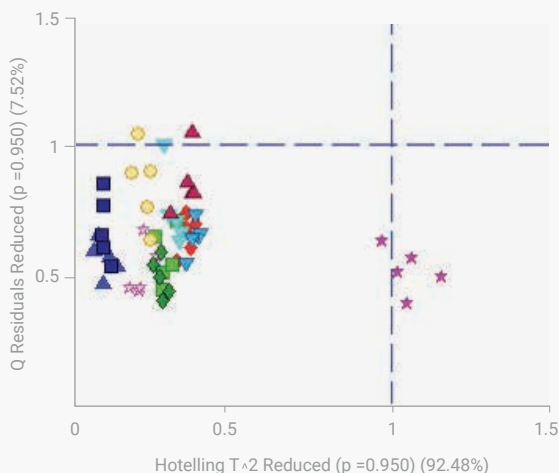


図 20. ホテリングと Q 残差のプロット。青の破線は 95 % における限度を示しています。この例で、ピンク色の星印は外れ値で、極度な 1 つの成分により、他のサンプルから離れて位置しています。同じ色のサンプルは互いに接近して位置しています。これは、良好な定性的属性です。残りのすべてのサンプルは限度内、または限度の非常に近くに位置しており、これは許容されます。

4.6.3 参照データ：同等性 – HPLC とラマンの誤差の比較

Y ブロックとはモデル構築に使用される濃度のソースは、時間経過とともに進展する可能性があります。Y ブロックの重量測定値を使用してモデル構築を開始するのが一般的な方法であり、これにより迅速に結果を得ることが可能です。ただし、重量測定値は、サンプルに含まれるものを表していない可能性があります。基準測定が必要になる場合があります。

下記の例を考えてみてください。ここでは、80 % ノミナル LC における一連のサンプルは同じであると仮定されますが、個々の LC 値を追加すると、実際の濃度範囲は 76 ~ 86 % になります。

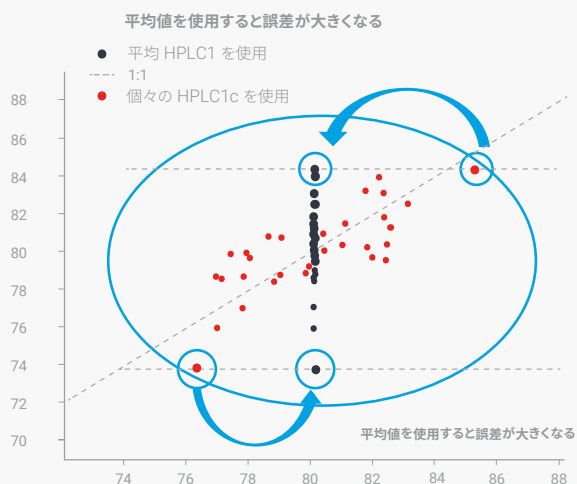


図 21. モデル開発への HPLC 導入の効果

HPLC 値をモデルに組み込むことによるモデル性能への効果を、下記の図 22 に示します。HPLC 値を使用することにより、モデル統計が向上し、より高い R2 とより低い RMSECV が得られます。

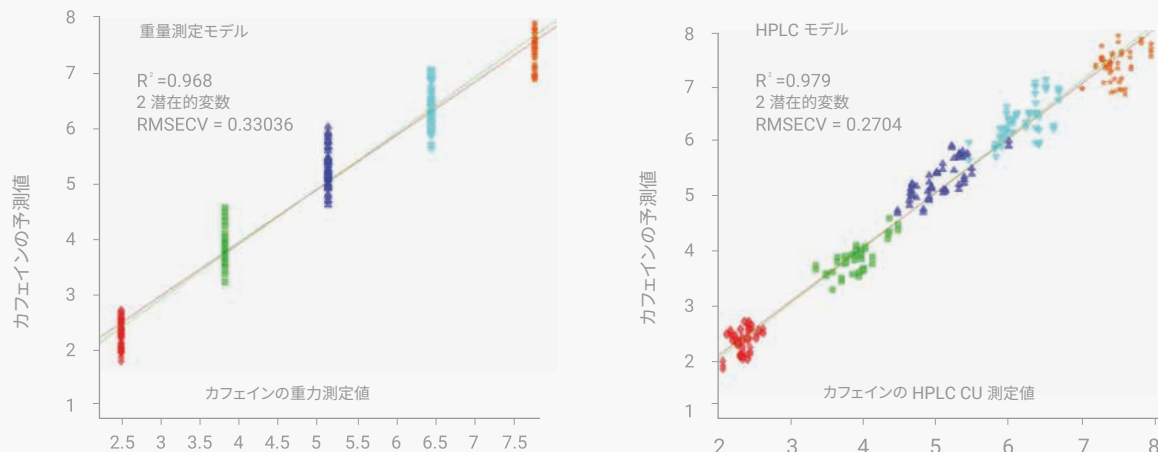


図 22. モデル開発への HPLC 導入の効果

参照手法を使用することにより、**必ずしも**モデル性能が向上するとは限りません。この問題は、既知の濃度でサンプルを作成したり、それらの重量を正確に測定したりするなど、より高精度に何を行うことが可能か、という結論になるのかもしれませんが。

誤差：

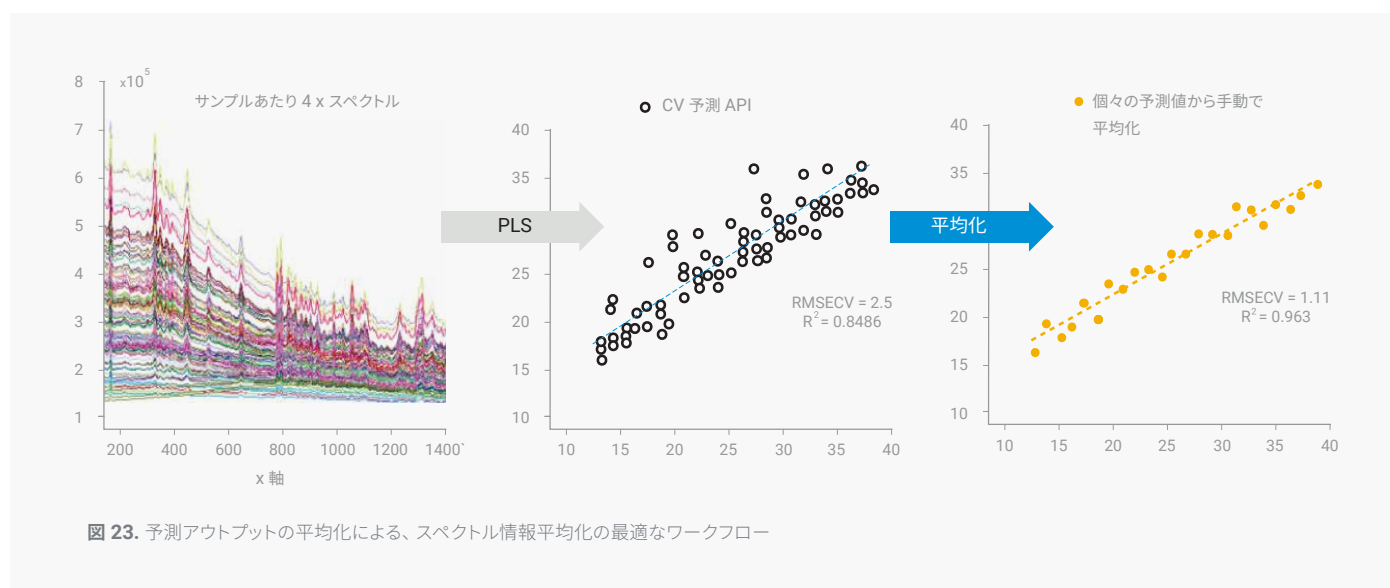
TRS モデル誤差 = TRS 誤差 + 参照手法の誤差（HPLC など）。

Y ブロックとして HPLC 誤差を使用することで、HPLC 誤差が TRS モデルに組み込まれます。これは、予測誤差が必ず HPLC 誤差よりも大きくなるということです。この点を考える上で有用な方法は、TRS が API の濃度ではなく、同等性モデルで HPLC の結果を予測しているということです。したがって、セカンダリメソッドとも呼ばれています。

上記について考えると、任意のメソッドのバリデーション基準は、適宜設定する必要があります。TRS など、同等のセカンダリメソッドでは、予想誤差は HPLC メソッドよりも大きくなります。

平均化

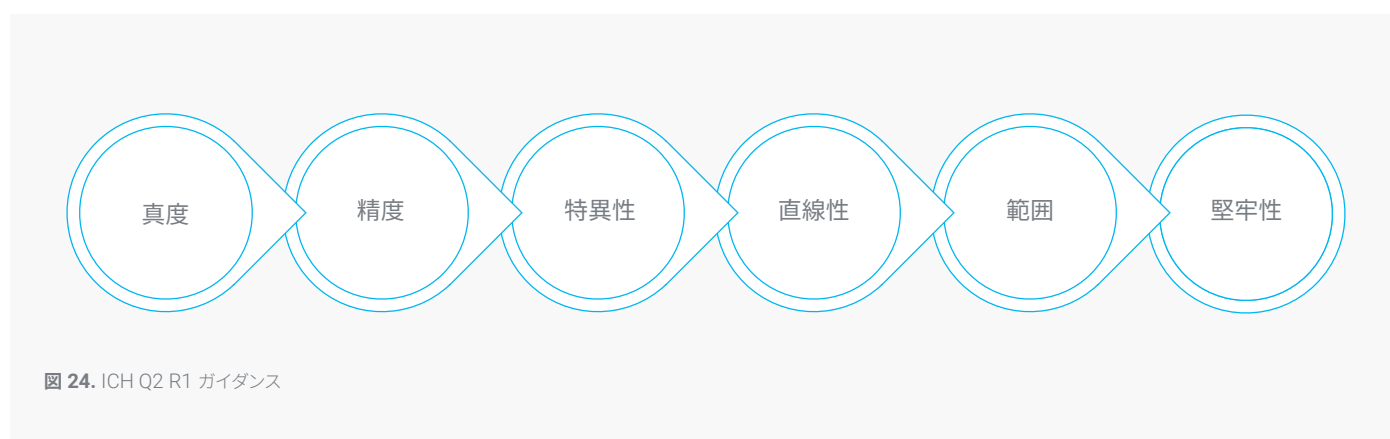
この短いセクションでは、スペクトル平均化のベストプラクティスについて説明します。これは、1 つの予測値が必要となる、薬包に入ったサンプル全体に対する複数のスキャンの効果を確認する場合に適用できる可能性があります。モデル構築前の前処理ステップで、スペクトルではなく予測アウトプットを平均化することが推奨されます。この方法によりモデルは、より多くの不確実性やノイズを「学習」します。



5.ステップ 3：メソッドバリデーション

バリデーションとは、キャリブレーションモデルを検査するためのプロセスです。堅牢性と信頼性に優れたキャリブレーションモデルの生成プロセスを完了させた後日常的な使用に導入できます。このガイドのすべてのステップと同じように、多くの場合に具体的なバリデーションプロセスはアプリケーションに依存しており、若干異なるプロトコルに従います。このセクションでは、ベストプラクティスと推奨事項について説明します。

メソッドの成功を評価し、実証する方法のリマインダを図 24 に示します。



5.1 バリデーションに使用するサンプル

キャリブレーションモデルを的確に検査するには、適切なバリデーションサンプルを使用する必要があります。この場合も、おそらくは、アプリケーションによって異なります。

バリデーションサンプルは、キャリブレーションサンプルに依存しません。例：

- 製品サンプル
- 良いサンプル
- 悪いサンプル
- キャリブレーションスペースを測定し、モデルを検査するサンプル
- 製造プロセスにおいて予測される変動を要約するサンプル
 - 自然な API/賦形剤/プロセスの変動を捕捉する
 - 異なるタイムポイントの異なるロットを捕捉する

5.2 真度の実証

ガイダンスの推奨事項：

「真度は、手順における特定の範囲で確立される必要があります。通常これは、結果をバリデーション参照メソッドと比較することで行います」[14]

プライマリ HPLC メソッドと比較した TRS 予測結果の例を下記の図 25 に示します。同じ単位を使用して手法を比較することが重要です。単位に関するセクション 2.3 を参照してください。1 つのサンプルにつき、ラマンメソッドでは %w/w で、HPLC では %LC で結果が生成されます。比較のために、多くの場合は、錠剤重量を変換することが必要です。 $\%w/w \times \text{錠剤質量} = \text{mg 有効}$ 。

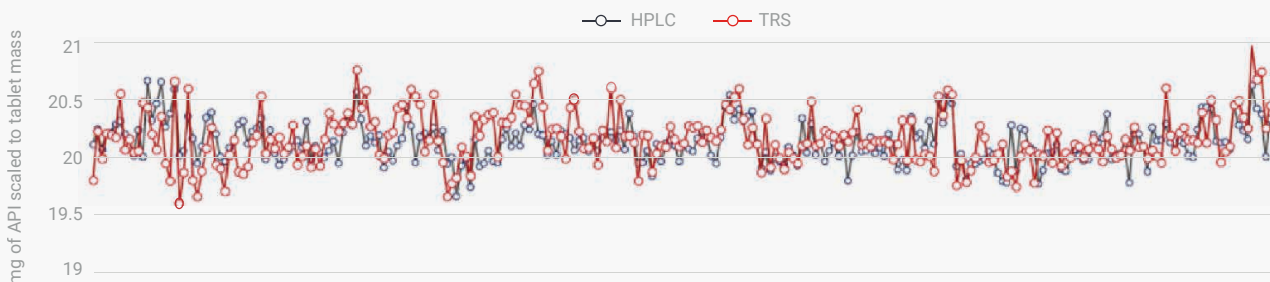


図 25. 主要参照手法（この場合は HPLC）に対する、TRS 予測アウトプットの比較

予測誤差のための主要なケモメトリック統計値は RMSEP (root mean square error of prediction: 予測の二乗平均平方根誤差) です。セクション 4.6.2.1 「モデル統計 0」を参照してください。この指標は、モデルが良好に法則化を行い、モデルから「見えない」新しい独立データで同じ性能を達成することを確認するものです。したがって、データの過剰適合を回避するために、RMSEP 値は RMSEC および CV 値と比較される必要があります。

RMSEC ≈ RMSECV ≈ RMSEP

所定のアプリケーションの成功の基準は異なる場合がありますが、次が含まれる可能性があります。

- RMSEP
- t 検定や f 検定など、統計検定の使用
- 信頼限界

5.3 精度の実証

ガイダンスの推奨事項：

「指定された範囲を網羅する再現性と室内再現精度を決定する必要があります」 [14]

TRS を用いたサンプルの繰り返しスキャンは迅速かつ非破壊的であるため、この情報は簡単に取得できます。一般的に、中心点や製品サンプルだけでなく、複数の濃度ポイントでこれを実行することを推奨します。成功は、%RSD 変動限度を規定することで判断できます。

表 1. 精度試験の例

精度	室内再現精度	装置間
同日	複数の日、複数の分析者	複数の機器

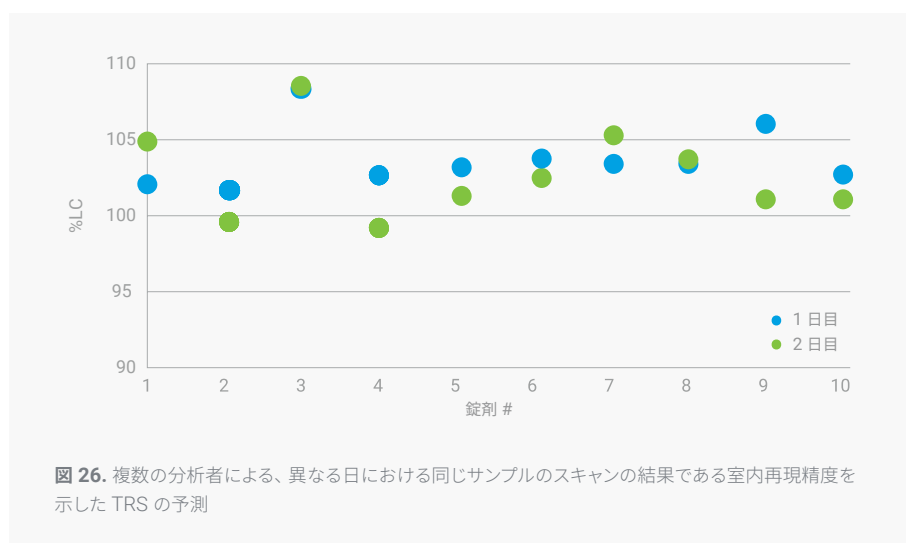


図 26. 複数の分析者による、異なる日における同じサンプルのスキャンの結果である室内再現精度を示した TRS の予測

表 2. 異なる 2 日で、10 の個別の錠剤サンプルでの精度を求めするために使用したデータの例。結果をプライマリ参照手法 HPLC と比較

	1 日目	2 日目	1 ~ 2 日目	TRS	HPLC	DTRS - HPLC
1	102.3	105.0	2.7	103.7	98.4	5.3
2	101.8	100.0	-1.8	100.9	97.8	3.1
3	108.0	108.1	0.1	108.1	103.7	4.3
4	102.3	99.7	-2.6	101.0	100.3	0.7
5	103.4	101.9	-1.5	102.6	99.9	2.7
6	103.6	102.8	-0.8	103.2	99.8	3.4
7	103.9	105.2	1.3	104.6	101.6	3.0
8	103.7	103.8	0.1	103.8	100.1	3.7
9	105.6	103.1	-2.5	104.4	101.6	2.8
10	103.0	101.5	-1.5	102.3	101.1	1.2
平均	103.8	103.1	-0.7	103.4	100.4	3.0
RSD	1.8	2.5	0.7	2.0	1.7	
AV	8.0	9.0		8.2	4.5	

表 3. 特定の分析アプリケーションに対して事前に定義された許容限度と比較した分析パラメータの例

分析パラメータ	許容基準	結果	ステータス
真度/特異性 (HPLC - TRS 平均差)	NMT 5 %	錠剤の差 3.0 %	合格
TRS 精度 再現性 室内再現精度 (%RSD)	NMT 5 %	1 日目 錠剤の差 1.8 % 2 日目 錠剤の差 2.5 % 平均 錠剤の差 0.7 %	合格
*仕様 (AV 値)	AV NMT 15	錠剤の差 50 mg、AV 8.2	合格

注：

代わりに、回帰ベクトルまたは VIP スコアを使用することが可能です。

5.4 特異性の実証

ガイダンスの推奨事項：

「手順では、他の成分の存在下で、分析対象物に明確にアクセスできなければなりません」 [14]

医薬品サンプルのラマンスペクトルは、すべての成分が混合されたものです。通常、モデル開発プロセスでは、1 つの API など、目的の化合物のみの測定を対象とします。ケモトリックスセクション 0 で説明したとおり、潜在変数は、キャリブレーションと所定の濃度との間の回帰を生成するためにモデルによって使用されたスペクトル特性です。最初の潜在変数は最も顕著な（少なくともスペクトル的に）成分です。

潜在変数（できれば最初の）を、メソッド開発の実現可能性段階で収集された純粋成分スペクトルと比較することにより、特異性を実証できます。これらが類似している場合、分析対象物のモデリングが適切であることを示しています。これを図 27 に示します。

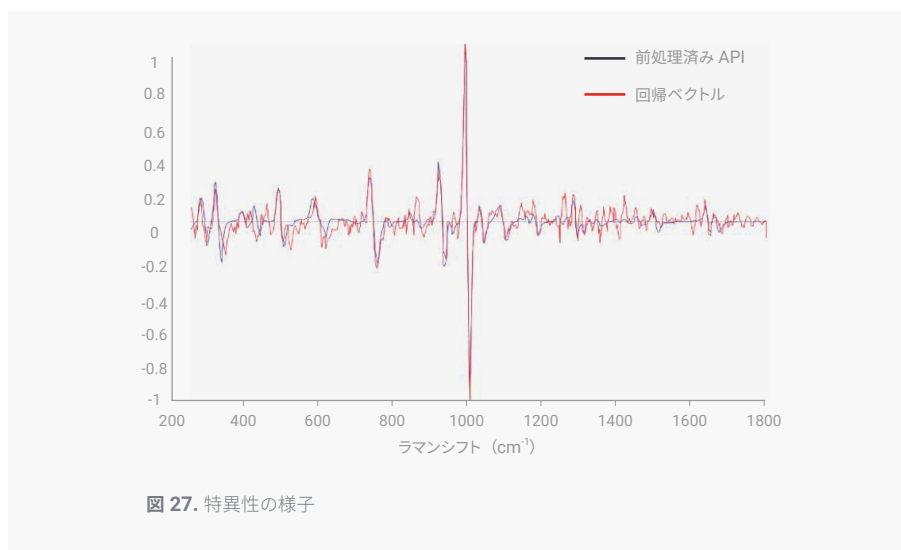


図 27. 特異性の様子

注 - スパイク試験：

注：HPLC では多くの場合、R2 は 0.99 を超えます。HPLC 直線性は、異なる濃度に対する検出器のレスポンス直線性の評価です。反対に、分光分析技法においては、評価対象の 2 つのメソッドの比較です。[15]

5.5 直線性と範囲の実証

ガイダンスの推奨事項：

「直線性を実証するために、バリデーショセットのサンプルが指定された範囲で分散している必要があります」[14]

測定値と予測値との比較をプロットすることで、R2 値はバリデーショ範囲にわたり直線性を示します。通常は 0.95 を超える R2 が許容されます。

5.6 堅牢性の実証

ガイダンスの推奨事項：

「分光分析手順の堅牢性を実証するためのエビデンスは、化学的および物理的可変要素、採用された条件、サンプリングとサンプル前処理のほか、手順パラメータのばらつきを網羅する必要があります」[14]

前のセクションで説明したとおり、堅牢性のテストは、完全にアプリケーションによって異なります。以下はその例です。

- 化学的変動
- 原料の変動
- サンプリング
- サンプル前処理

圧縮力に対する堅牢性の例を図 28 に示します。異なる色は、3 つの圧縮力です。測定値と予測値の比較のプロット（下部左）は、R2 ≈ 1 で低く、RMSC/CV/P 値は類似しており、すべてのサンプルを良好に予測できることを示しています。ただし、ホテリング T2 と Q 残差プロットに、ある程度の分離が観察されます（上部左）。モデルは、異なる圧縮力のサンプル間の微妙なスペクトル差を認識します。圧縮力の変動に対し、限度またはアラームとして、Q 残差を使用することができます。

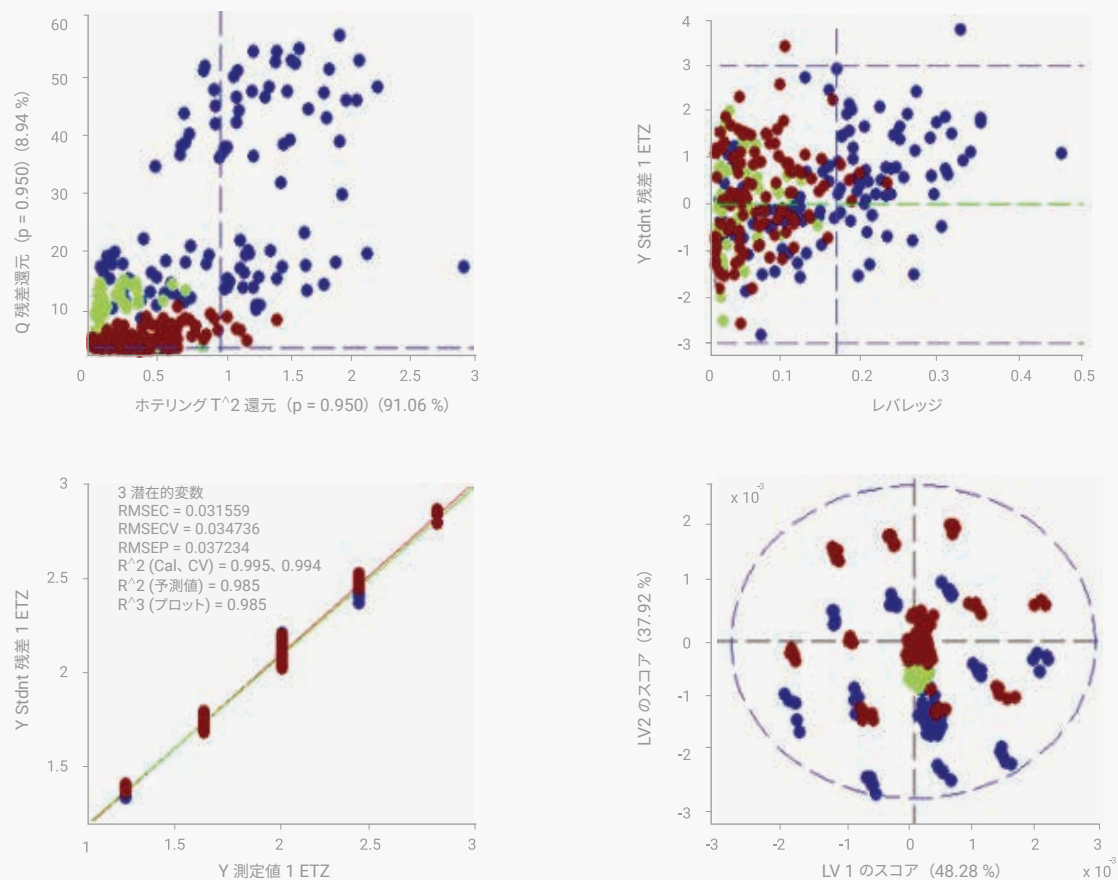


図 28. 圧縮力の変動による堅牢性を示した例

賦形剤サプライヤに対する堅牢性のもう 1 つの例を図 29 に示します。異なる賦形剤サプライヤ (異なる色) は同じように予測し、 $R^2 \approx 1$ で低く、RMSC/CV 値は類似しています。

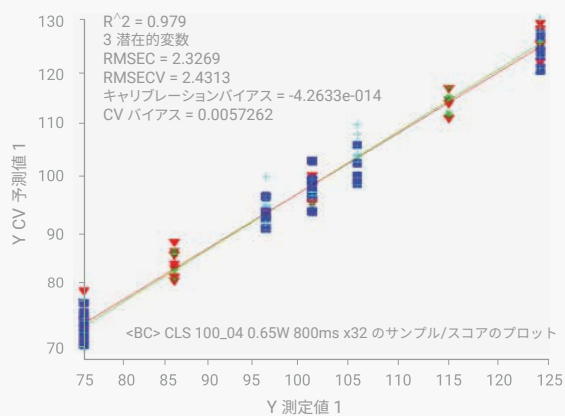


図 29. 賦形剤サプライヤの堅牢性

5.7 モデルが十分に良好でない場合

メソッド開発のプロセスは反復的です。特定のパラメータ/キャリブレーションサンプルのセットにより適切な結果が生成されない場合、改善することが可能です。

可能な変更は次のとおりです。

- キャリブレーションにさらにサンプルを追加する：異なる圧縮力のサンプルなど、既知の変動のいくつかのサンプルを追加できます。
- サンプルを取り除く：例えば、サンプルが壊れやすく、製品品質の材料を表していないなど、化学的に正当化される場合にのみ、キャリブレーションからサンプルを取り除きます。
- 測定の設定を変更する。例えば、モデル性能で S/N 比が制限される場合は、露光時間を増加させます。

ラマンメソッド開発のためのすべての意思決定プロセスにおいては、QbD 原則に従い、妥当な科学的論理に従う必要があります。プロセスの最初に徹底的なリスク分析が行われていれば、すべての予測されるプロセス変動とサンプルが検討され、プロセスを遡ったり、さらに多くのサンプルを作成したりする必要性が軽減されているはずです。

6.ステップ 4：メソッドのライフサイクル

6.1 モデルのメンテナンス、更新、ライフサイクル

規制ガイドラインでは、最初の規制アプリケーションの後に、(実装された変更管理ポリシーを通じて社内での品質管理手順によって管理された) 計画された変更や予定外の変更によって、時間とともに分光分析メソッドは発展する可能性があることが認識されています。

6.1.1 メソッドの範囲内の変更

メソッド範囲内の分光分析メソッドに対する変更は、本手順に従い検証される必要がありますが、規制の変更は不要です。このような変更に対しリスク評価を行い、優れた科学、製造、工学的な実践とコントロールにより、確認されたリスクを軽減する必要があります。このような変更の例として、キャリブレーションモデルのスペクトルの追加、サンプリング装置の適用、ソフトウェアのアップグレードなどがあります。

新しい原料やサプライヤなど、メソッド範囲内の製造プロセスへの変更は、最低でも 1 バッチで並列試験を実行して評価する必要があります。変更後のスペクトルがスペクトルチェックに合格し、結果が指定された精度、真度、および回収率許容基準を満たした場合、分光分析メソッドを変更する必要はありません。そうでない場合、メソッドは、製造プロセス/原料/サプライヤの変更後に作成されたサンプルのスペクトルにより更新する必要があります。分光分析メソッドに変更が必要かどうかに関わらず、評価の結果を文書化する必要があります。

6.1.2 メソッドの範囲外の変更

メソッド範囲外の分光分析メソッドに対する変更は、本手順に従い検証され、規制の変更が必要となります。このような変更には、メソッドの指定された範囲の拡大、登録済みの TRS メソッド外のデータ取得パラメータに対する変更、または仕様の限界に対する変更などがあります。

6.1.3 並列試験

並列試験（TRS によるサンプルの試験を行い、次に製品リリースのための参照メソッドによる同じサンプルの試験を行う）は、規制当局の承認のために提出された TRS メソッドに対し、提出がレビューされている間に実行することができます。

6.1.4 定期的な参照メソッド/TRS の比較

開発された TRS モデルの性能は、分析目標性能プロファイルのために、内部機構に従ってモニタリングされます。参照メソッドと TRS メソッドとが引き続き一致していることを検証するために、TRS（最初）と参照メソッドの両方で、最低でも年に 1 回、同じサンプルの試験を実施する必要があります。このような定期的な試験は、無効なサンプルで（例えば、プロセスの最初の実行）、または QC リリースサンプルで実行することができます。

参照メソッドと TRS の両方によって試験されるサンプルは、バリデーションプロトコルの真度および許容基準を満たす必要があります。そうでない場合は、分析ラボの事象調査を実施し、根本原因を解明して、是正および予防措置を講じます。

6.1.5 規格外や傾向外の結果が出た場合の取り扱い

TRS で規格外や傾向外の結果が出た場合、根本原因の調査のために、標準化された手順が開始されます。例外的な結果の原因が、モデルに対するこれまで未知だったインプットであることが明らかとなった場合、この新しい経験を組み込み、TRS モデルを更新するために、モデルメンテナンスと再バリデーションサイクルが開始されます。

この全体的なプロセスを図 30 のフローチャートに要約します。

6.1.6 主な機器の修理

主な機器の修理後、最低でも 1 つのバッチで並列試験を実施し、TRS メソッドを再評価する必要があります。修理後のスペクトルがスペクトルチェックに合格し、結果が精度、真度、および回収率許容基準を満たした場合、分光分析メソッドを更新する必要はありません。そうでない場合、修理後に作成されたサンプルのスペクトルによりメソッドを更新する必要があります。分光分析メソッドに更新が必要かどうかに関わらず、評価の結果を必ず文書化する必要があります。機器の修理は、メソッドの範囲内の変更となります。

6.1.7 機器間のメソッド移管

現場に複数の TRS 機器がある場合、確実にそれらの差異が、開発された TRS モデルに含まれるように、両方の機器を使用してメソッドを開発する必要があります。

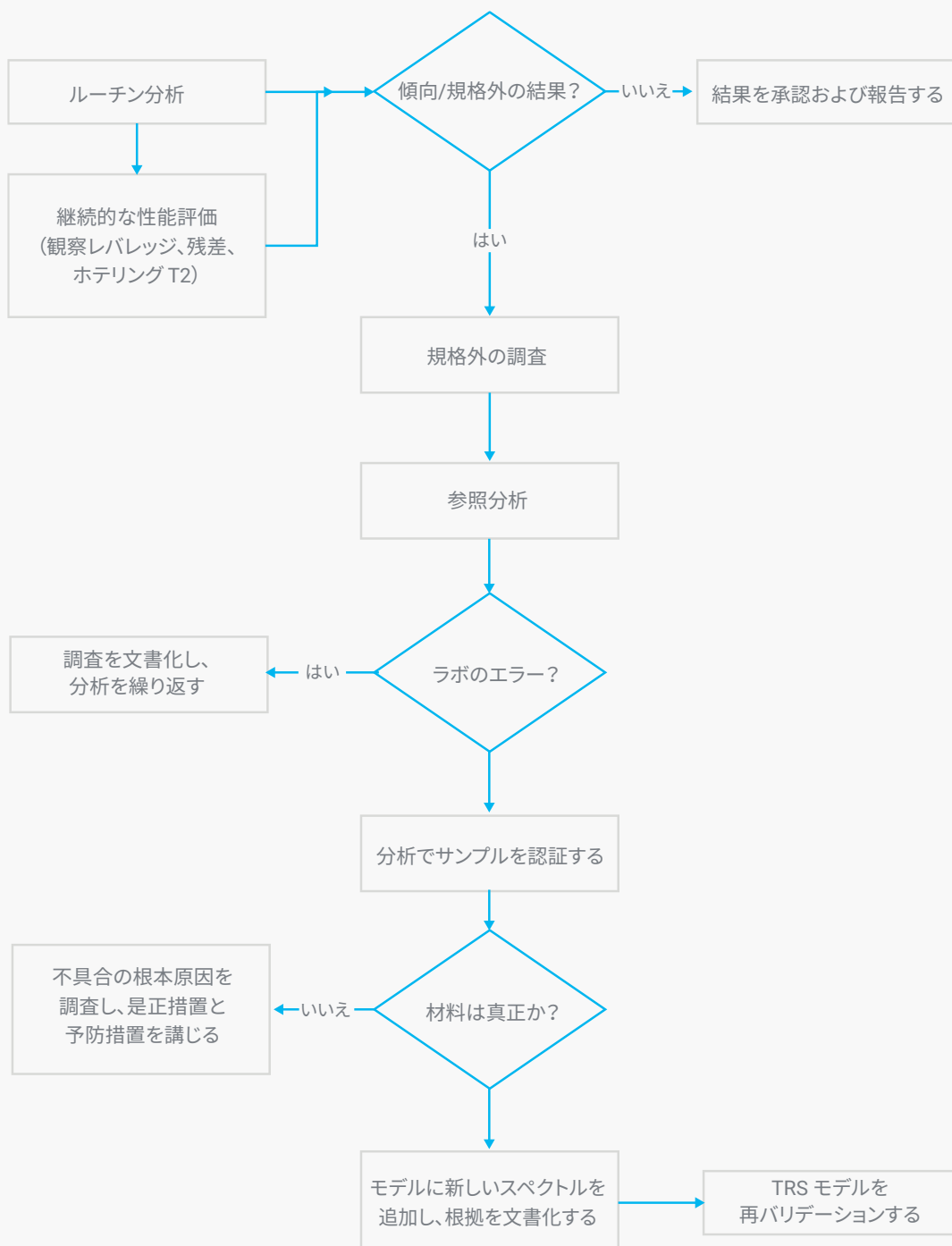


図 30. 定期的な参照比較プロセス

7.メソッドの提出

執筆の時点において（2018）、欧州医薬品庁（EMA）または米国食品医薬品局（FDA）によるラマン専用のガイドラインはありませんでした。ユーザーがラマン技術を導入することは容易ではありません。管轄当局（CA）による、承認された従うべき「ロードマップ」がないからです。特定のガイダンスがないことは、規制当局の評価担当者にとっても困難となる可能性があります。これまでの経験がないために、規制当局は妥当な科学的原則を参照します。したがって申請者は、手法の堅牢性と、バリデーションアプローチの厳格さを実証しなければなりません。

幸運にも、「Guidance on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations, EMEA/CHMP/CVMP/QWP/17760/2009 Rev2 Jan 2012」が 2014 年 8 月に発効されました。[14.16]

NIR およびラマン技術間のメソッド開発とケモメトリック手法の類似性により、CA では、このガイドラインを参照することと、該当の要件をラマン分光分析の導入に対し適用することを推奨しています。

また、ラマン分光分析の考慮事項の手引きとなる、複数の要約ガイドラインもあります：

- 欧州薬局方 2.2.48 [17]
- 米国薬局方 <858> および <1858> ラマン分光分析 [18]
- 米国薬局方 <1039> ケモメトリックス [9]
- ASTM E1840-96(2014)[19]

本セクションでは欧州のプロセスに焦点を当てていますが、セクション 7.1 で説明されているように、他の規制機関でも同様のプロセスやガイダンスを用意しています。その他のガイダンス文書については、セクション 10 の参考文献を参照してください。

7.1 メソッド提出のプロセス

医薬品分析の革新技術を適用することは、新技術導入の妨げとなる、現実の、あるいは想定上の障壁が多数伴う、大変な作業のように思われます。とは言うものの、本ガイドを通じて、CA に透過型ラマン分光分析メソッドを提出することが、満たすべき要件が十分に理解され、迅速に製品を試験するための優れた方法に関するサポートが用意されている、他の新しい分析化学メソッドの提出と大差ないことをご理解いただければ幸いです。

問題の説明：

- 標準の HPLC メソッドから透過型ラマン分光分析に変更したいです。
- 提出する変更の種類は
- 規制当局が必要とする文書は

最初のステップは、通常、プロセスのできるだけ早い段階で、規制当局/国の CA に関与するということです。

欧州規格の改訂に関しては、該当の管轄当局に変更を提出することが必要です。

変更とは、規制機関に提供された登録情報の変更を提出するための手順です。

欧州では、Regulation 1234/2008 で販売承認（ライセンス）の変更のための手順が管理され、変更の分類が詳述されています。

- タイプ IA：軽微な変更：製品の品質、安全性、効能に対する影響はほとんどありません。変更を実行し、通知します。
- タイプ IAIN：軽微な変更。変更は、実施の 2 週間以内に通知する必要があります。
- タイプ IB：軽微な変更。変更は、実施前に管轄当局に通知する必要があります。
- タイプ II：重大な変更。製品の品質、安全性、効能に影響を及ぼす可能性があり、変更を実施する前に CA からの承認を得る必要があります。

変更の正しい分類は、適切な初回の評価のために、申請者にとって非常に重要です。

例では（HPLC からラマン分光分析への変更）、製品の品質、安全性、効能への影響の可能性を評価する必要があるため、タイプ II の変更を設定されます。ただし、変更の分類については、提出前に各国の管轄当局に問い合わせることを推奨します。タイプ IB およびタイプ II はすでに、欧州において透過型ラマンの提出に使用されています。

タイプ II の変更の場合、変更の分類ガイドラインに従って、準拠すべき既定の文書や条件はありません。ただし、要件は、最終製品の試験手順変更のための、タイプ IB の変更（B.II.d.2 d）に関するものと同等になります。

- 分析メソッドの説明、バリデーションデータの要約、不純物に関する改訂された詳細情報など、文書の該当セクションの修正（該当する場合）。
- 現行の試験と提示された試験が同等であることを示す、比較バリデーション結果、または適切であると判断される場合は、比較分析結果。新しい試験手順の場合、この要件は適用されません。

これらの要件に加え、提出準備の前にリスク評価を実行し、有効な結果の生成における手順の性能に悪影響を及ぼしうるリスクを評価します。提出には、最新の専門家の報告書も含まれる必要があります。この場合は、最新の QOS を提供しなければなりません。

米国では、変更に対して異なる名称が適用されていますが、プロセスと文書の要件は非常に似ています。

- PAS – 事前変更申請。重大な変更
- CBe0 – 即時に変更が発効。軽微な変更
- CBe30 – 30 日の変更が発効。軽微な変更
- 年次報告。軽微な変更

HPLC からラマン分光分析への変更は、PAS – 事前変更申請（重大な変更）として提出されます。

7.2 メソッド提出の様子

提出には、特定の文書セクションに、変更の一環として更新されたすべての文書が含まれます。

モジュール 1

- 1.4.1 品質

モジュール 2

- 2.3 品質に関する概括資料
 - 2.3.S 原薬（変更が原薬試験に適用される場合）
 - 2.3.P 製剤（変更が製剤試験に適用される場合）

モジュール 3 原薬（変更が原薬試験に適用される場合）

- 3.2.S.4. 原薬の管理
 - 3.2.S.4.1 – 規格及び試験方法
 - 3.2.S.4.2 – 分析方法
 - 3.2.S.4.3 – 分析方法のバリデーション
- モジュール 3 製剤（変更が製剤試験に適用される場合）
 - 3.2.P.2 製剤開発の経緯
 - 3.2.P.5 製剤の管理
 - 3.2.P.5.1 – 規格及び試験方法
 - 3.2.P.5.2 – 分析方法
 - 3.2.P.5.3 – 分析方法のバリデーション

7.3 考慮事項

提出される各文書の内容は、明確かつ明瞭である必要があります。

適切な初回の提出を促進するために、必須文書に関する主な考慮事項の一覧を示します。

分析方法

- 手順の範囲をメソッドで明確に説明します。
- 含まれる詳細事項はすべて、該当の製品に固有でなければなりません。
- 検出器のレーザータイプについての説明や使用される波長、使用されるソフトウェアやベースとなるケモメトリック原理、機器キャリブレーション、バリデーション、ルーチン測定、前処理、各サンプルで実行されるスキャン数など、表を使用して主要なデータを示します。
- バルクアッセイ、含量均一性試験など、メソッドで、アプリケーションごとの機器設定やサンプル前処理の違いを明確に説明します。
- データの組み合わせ方法について不明瞭にならないよう、ラマンと参照メソッドのデータの相関関係を明確に説明します。
- ルーチン分析におけるデータの外れ値の処理方法について、説明と根拠を提示します。
- ラマンメソッドが ID、アッセイ、または製品のバッチリリースのための CU において指定された後に、バッチでの失敗が発生した場合、失敗について徹底的に調査し原因を特定しない限り、現在登録されているメソッドで代用することはできないという点を明確に示す必要があります。

製剤開発の経緯

- 開発の問題を簡潔に説明します。
- 医薬品の組成に関する詳細情報が含まれている必要があります。
- 製剤の変更に関する詳細情報を明示する必要があります。
- 活性物質と賦形剤に関する製剤の範囲を記載します。
- 個体群の混合、バッチ組成物、混合/バッチコードを明示する必要があります。

分析の仕様

- 仕様で、ラマンまたは HPLC など、製品のバッチリリースのために日常的に使用される、同定手段、アッセイ、含量均一性試験を明示します。
- バッチリリースのための分析試験を指定します。

分析方法のバリデーション

- 本セクションでは、各パラメータに対しどのようにバリデーションが達成されたか、および各パラメータに適用された合否基準について、詳細に説明します。使用される用語を明確に定義します。
- バリデーションで調査したすべての変数とパラメータ（パラメータのスペクトル採取とそれらの最適化、外部および内部バリデーション、ラマンおよび参照メソッドの組み合わせデータ、スペクトル品質試験、予測の標準誤差（SEP）、合否基準など）を十分に説明します。
- メソッドの再バリデーションを行う、またはライブラリを更新する状況について、十分に説明します。

品質に関する概括資料

- QOS を更新し、ラマンメソッドと、その使用目的に対するバリデーションについて批判的に評価する必要があります。

一般的に、すべての定義を詳細に説明し、すべての用語が読者にはっきりと理解されるようにします。ラマンおよび HPLC 試験による同じサンプルの定期的な比較分析に対し、最低でも年に 1 回はアドバイスを受けます。

8. 著者



Julia Griffen、アプリケーションケミスト、アジレント・テクノロジー。2013 年にバース大学で、持続可能性と医薬品製造に注力し、有機合成の PhD を取得しました。2013 年に Cobalt Light Systems（現在のアジレント）に入社後、販売前の実現可能性の研究の支援やカスタマートレーニングとサポートに取り組み、多数の透過型ラマンアプリケーションの成功に貢献しました。TRS100 ユニットとアプリケーションのエキスパートです。



Acorn Regulatory は 2002 年に Gemma Robinson 博士によって設立されました。Gemma は、国際的な複数の大手ヘルスケア企業において 20 年以上の経験を持っています。Acorn の規制チームは、業界での最高レベルの医薬品製造分野において、15 年以上の経験を持つ個人で構成されています。Acorn は、SME から多国籍の医薬品・医療機器製造業者まで、世界中のあらゆる規模の企業に対し、規制戦略、製品の登録、QMS、GDP/GMP、医薬品安全性監視、医療機器サービス、臨床試験に関するサポートを提供しています。

<https://acornregulatory.com/>



Phil Doherty、Process Analytics, Ltd. 医薬品業界に包括的な Process Analytical Solution と QbD サービスを提供することを専門とするアイルランドの Process Analytics のリードコンサルタント。英国サンドウィッチにある Pfizer Global R&D に 1991 年に入社しました。同社の Technology Development Group で 12 年間にわたり、API および固体製造のための Process Analytical Technology システムの開発に取り組みました。2012 年の設立以来、Process Analytics は、大手医薬品・化学薬品企業に専門的なサポートを提供しています。

<http://www.process-analytics.ie/>

Phil.Doherty@Process-Analytics.ie

+353 86 1780 631

9.用語集

API	Active Pharmaceutical Ingredient、医薬品有効成分
ASTM	American Society for Testing and Materials、米国材料試験協会
AV	Acceptance value、判定値
CA	Competent Authority、管轄当局
CU	Content uniformity、含量均一性
DoE	Design of experiment、実験計画法
EMA	European Medicines Agency、欧州医薬品庁
EP	European Pharmacopeia、欧州薬局方
FDA	U.S. Food and Drug Administration、米国食品医薬品局
HPLC	High performance liquid chromatography、高速液体クロマトグラフィー
ICH	International Council for Harmonization、医薬品規制調和国際会議
ID	Identification、同定（通常は、医薬品）
L-HPC	Low-substituted hydroxypropyl cellulose、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース
MCC	Microcrystalline cellulose、微結晶セルロース
NIR	Near infrared、近赤外線
NMT	Not more than、以下
PAS	Prior Approval Supplement、事前変更申請
QOS	Quality by design、クオリティ・バイ・デザイン
RAM	Rapid analytical method、高速分析メソッド
RMSE	Root mean square error、二乗平均平方根誤差
RSD	Relative standard deviation、相対標準偏差
SEP	Standard error of prediction、予測の標準誤差
SNV	Standard normal variate、標準正規変量
TRS	Transmission Raman Spectroscopy、透過型ラマン分光分析
UPS	United States Pharmacopeia、米国薬局方
UV-vis	Ultraviolet-visible spectroscopy、紫外可視分光分析

10.参考文献

- [1] ICH, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf.
- [2] USP <1225> Validation of compendial procedures.
- [3] Lewis, H.; Edwards, I. R. Handbook of Raman Spectroscopy; CRC Press, 2001, 1st Edition.
- [4] Matousek, P.; Overall, N.; Littlejohn, D.; Nordon, A.; Bloomfield, M. Dependence of signal on depth in transmission Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. 2011, 65, 724–733.
- [5] Griffen, J. A.; Owen, A. W.; Andrews, D.; Matousek, P. Recent advances in pharmaceutical analysis using transmission Raman spectroscopy. *Spectroscopy*. 2017, 32, 37–43.
- [6] Buckley, K.; Matousek, P. Recent advances in the application of transmission Raman spectroscopy to pharmaceutical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011, 55, 645–652.
- [7] Theil, F.; Milsmann, J.; Kyeremateng, S. O.; Anantharaman, S.; Rosenberg, J.; van Lishaut, H. Extraordinary Long-Term-Stability in Kinetically Stabilized Amorphous Solid Dispersions of Fenofibrate. *Molecular Pharmaceutics*. 2017, 14, 4636–4647.
- [8] Chemometrics Wikipedia page. <https://en.wikipedia.org/wiki/Chemometrics> (accessed July 2019).
- [9] USP <1039> Chemometrics.
- [10] Mark, H.; Workman, J. *Chemometrics in spectroscopy*; Elsevier/Academic Press, 2007.
- [11] R.G.Brereton, *Chemometrics*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2003.
- [12] Griffen, J. A.; Owen, A. W.; Matousek, P. Quantifying low levels (<0.5% w/w) of warfarin sodium salts in oral solid dose forms using transmission Raman spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018, 155, 276-283.
- [13] Andrews, D.; Geentjens, K.; Igne, B.; McGeorge, G.; Owen, A.; Pedge, N.; Villaumié, J. Woodward, V. Analytical Method Development Using Transmission Raman Spectroscopy for Pharmaceutical Assays and Compliance with Regulatory Guidelines—Part I: Transmission Raman Spectroscopy and Method Development. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. 2018, 13, 121–132.
- [14] European Medicines Agency, Guideline on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations, 2014.
- [15] Villaumié, J.; Andrews, D.; Geentjens, K.; Igne, B.; McGeorge, G.; Owen, A.; Pedge, N.; Woodward, V. Analytical Method Development Using Transmission Raman Spectroscopy for Pharmaceutical Assays and Compliance with Regulatory Guidelines—Part II: Practical Implementation Considerations. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. 2017, 1–14.

[16] US FDA, Development and Submission of Near Infrared Analytical Procedures Guidance for Industry, 2015. <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

[17] European Pharmacopeia Commission, General Chapter 2.2.48 on Raman Spectroscopy.

[18] USP <858> Raman Spectroscopy. USP <1858> Raman Spectroscopy – Theory and Practice.

[19] ASTM E1840-96 Standard Guide for Raman Shift Standards for Spectrometer Calibration, 2014.

【お問い合わせ先】

Agilent ラマン製品に関する販売およびサポートは、
ジャパンマシナリー株式会社に委託しております。
お問い合わせはジャパンマシナリー株式会社までお願いいたします。

ジャパンマシナリー株式会社

電話番号：

03-3730-4891

お問い合わせフォーム：

<https://www.japanmachinery.com/contact/>

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

DE44431.1117361111

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2022
Printed in Japan, April 6, 2022
5994-1091JAJP