

TRS100 分析方法开发指南



目录

引言	3
1. 前言	5
1.1 方法开发需考虑因素	6
1.2 评价模型是否成功建立	8
1.3 生命周期概述	8
2. 基本原理	9
2.1 拉曼光谱	9
2.2 化学计量学	11
2.3 单位	11
3. 第 1 步：可行性分析 — 找出合适的测试品种	12
3.1 什么是合适的样品？	12
3.2 找到合适的样品	13
4. 第 2 步：校准模型建立	16
4.1 制备样品	16
4.2 选择哪种 DoE 设计？ DoE 设计决策树	17
4.3 制备样品	18
4.4 其他需要考虑的因素	19
4.5 测量样品	19
4.6 模型建立	21
5. 第 3 步：方法验证	28
5.1 使用何种样品进行验证？	29
5.2 准确度验证	29
5.3 精密度验证	30
5.4 特异性验证	31
5.5 线性范围验证	32
5.6 稳定性验证	32
5.7 如果我的模型不理想该怎么办？	34
6. 第 4 步：方法生命周期	34
6.1 模型维护、更新和生命周期	34
7. 方法提交	37
7.1 方法提交过程是怎样的？	37
7.2 方法提交书是什么样的？	39
7.3 注意事项	40
8. 作者	42
9. 术语表	43
10. 参考文献	44

- 本文档可用作帮助用户开发透射拉曼光谱 (TRS) 定量分析方法的工具，以确保达到监管部门批准放行测试所要求的标准
- 参考了重要的行业和法规文档，并以多种形式向初级用户进行了演示
- 介绍从可行性评估到常规使用的整个方法开发过程

注：

每种 TRS 定量分析方法都取决于应用，并且应根据具体应用进行处理。

总体而言，方法开发过程是一个数据驱动的科学过程，遵循逻辑分析考虑因素。

本文件介绍了最常见的 TRS 方法开发过程、问题和误区。

本指南的主要学习内容

- 最佳实践指南
- 如何充分利用 TRS100
- 优化样品创建和数据采集
- 选择最佳方法开发模型的决策过程
- 设定切合实际的预期
- 模型创建过程

适用对象

对光谱定量分析知之甚少或完全不了解的分析科学家

参与编著的专家

感谢 Process Analytics 的 Phil Doherty 提供了第 6 节有关方法生命周期和第 7 节有关法规文件申报的相关内容。这些内容基于他们提交给监管机构的 TRS 分析方法的成功经验。他的详细联系方式可参见第 8 节。

引言

本文件可作为利用透射拉曼光谱进行药物定量分析的指南使用。内容涵盖可行性评估、模型建立、验证、向监管机构提交方法以及模型生命周期管理等部分。

虽然我们已经尽力从 FDA 和 EMA 流程的角度来制定更加全面的路线图，但在启动开发工作之前，应确认各个相关机构的监管要求。最终用户有责任了解相关主管部门 (CA) 的现行做法和要求，对工作进行相应调整以满足要求并能顺利获得批准。批准完全由 CA 决定。本指南并非详尽无遗，但是它应当能够为用户开启其透射拉曼光谱之旅提供有价值的框架，并帮助用户成功实现方法提交。

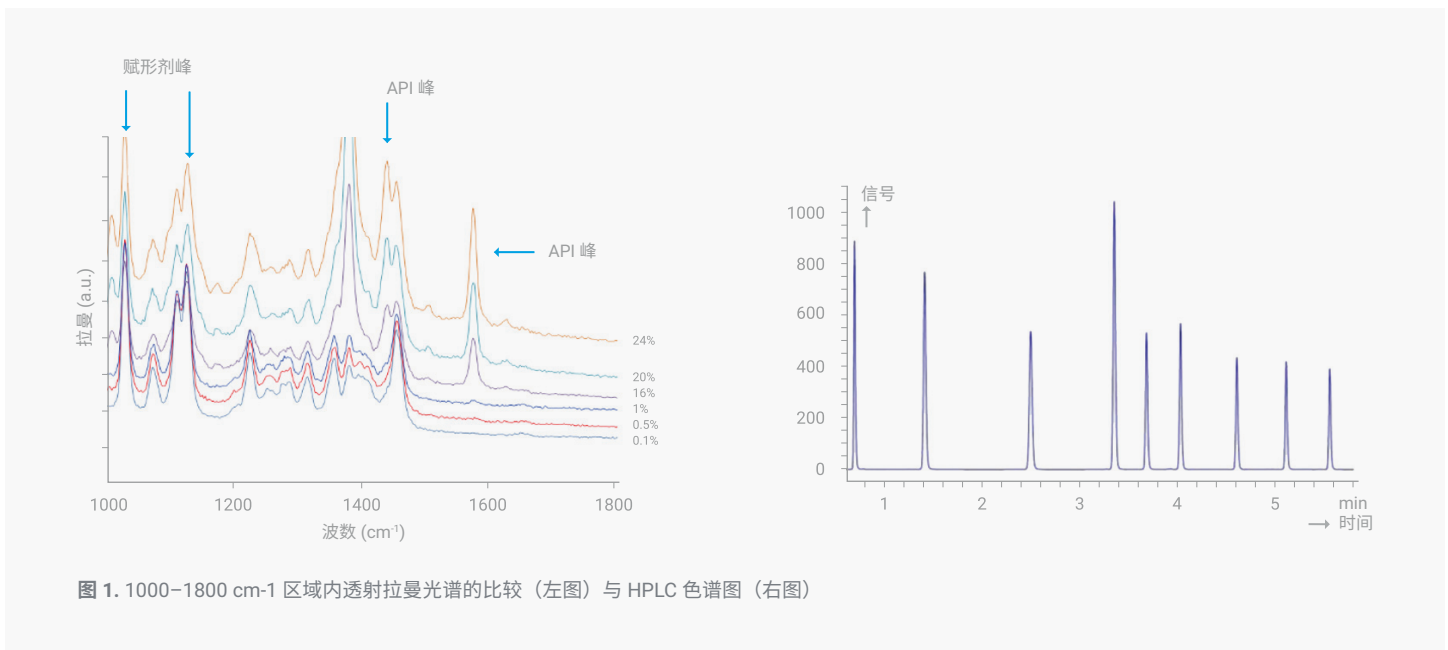
1. 前言

透射拉曼光谱 (TRS) 可用于片剂和胶囊等口服固体剂型的定量分析。TRS100 仪器的主要应用领域为含量均一度 (CU) 测试。这种测试是对各个样品进行定量测量，以计算某一批药物的剂量规格范围，从而得出一个合格值。

TRS 与 HPLC 或 UV-Vis 等用于 CU 测试的传统分析技术形成互补。TRS 无需样品前处理及前处理溶剂，为无损测试，每次测量只需几秒钟。

TRS 光源信号能穿过整个样品，检测器直接收集整个样品内拉曼活性成分的信号。利用样品的拉曼光谱，通过化学计量学模型分析拉曼光谱以实现定量测量。

相比之下，LC 使用色谱分离以获得目标分析物的信号响应。可以对 LC 峰面积与校准标样的峰面积进行比较，从而实现定量测量。简而言之，TRS 光谱一次获取所有组分信息，而 LC 则需要按时间分离组分信息。如图 1 所示。



新分析方法的开发可能涉及大量工作，但是这一过程可以划分为几个具有明显时间节点的阶段，以指导开发人员和监管机构成功完成方法开发过程。TRS100 方法模型的成功建立，可以帮助用户显著降低产品检测时间以及和人员、消耗品、溶剂和废液处理相关的成本，并极大地提高样品检测通量，如图 2 所示。

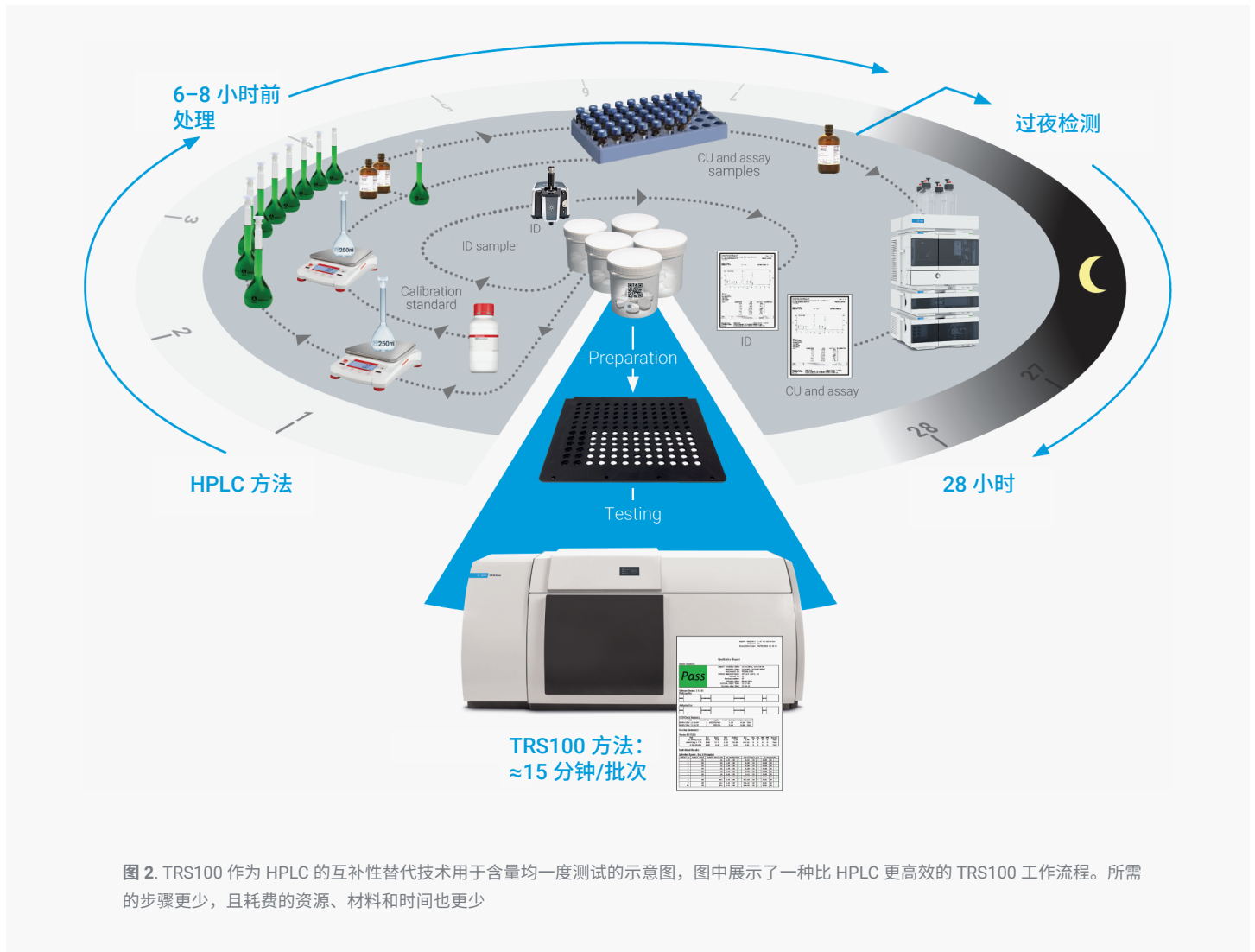


图 2. TRS100 作为 HPLC 的互补性替代技术用于含量均一度测试的示意图，图中展示了一种比 HPLC 更高效的 TRS100 工作流程。所需的步骤更少，且耗费的资源、材料和时间也更少

注：

对于利用 TRS 进行样品测试的方法开发过程是否能成功将始终取决于具体样品。

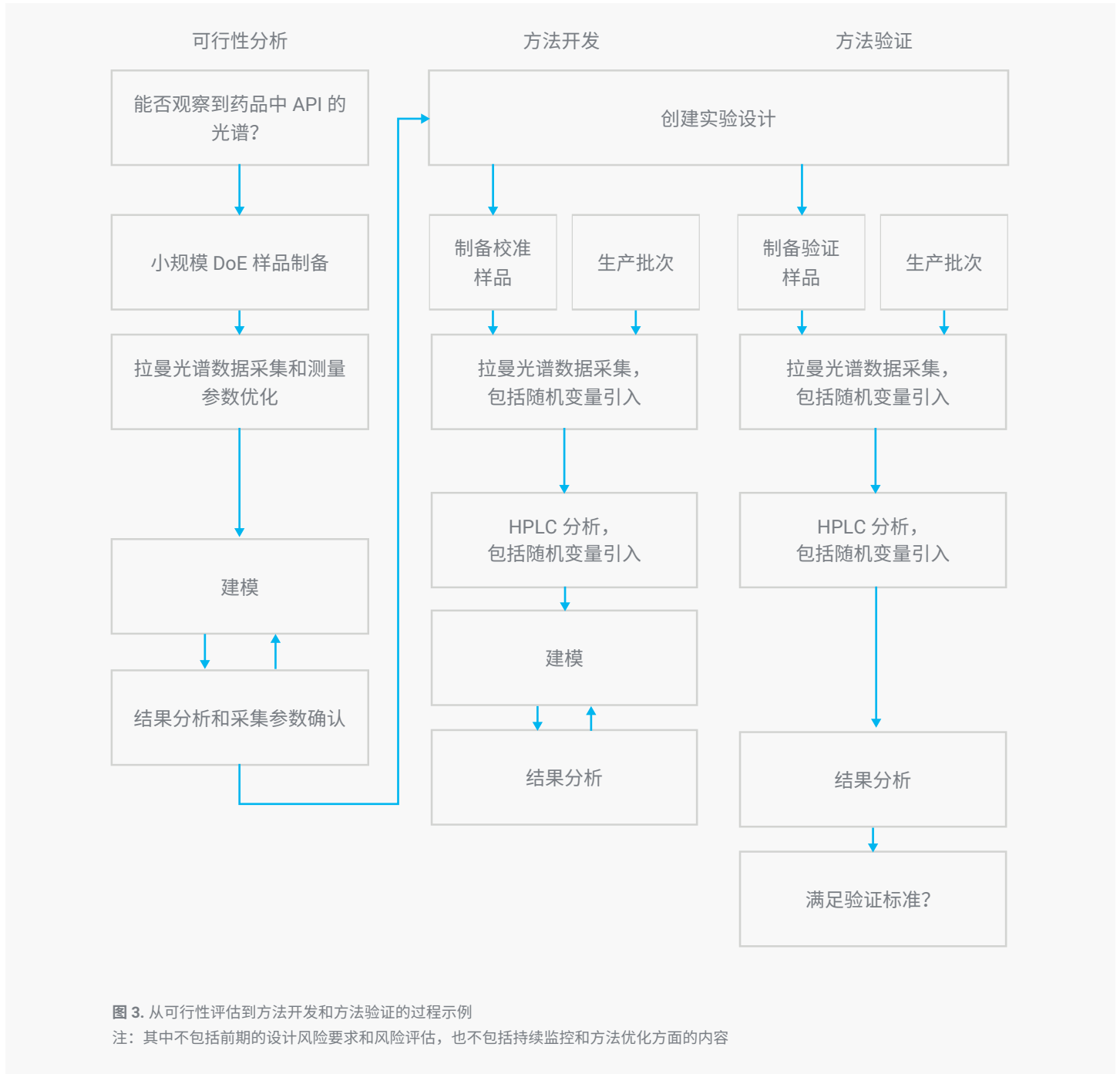
1.1 方法开发需考虑因素

TRS 方法开发过程是假设开发一种方法来替代另一种分析技术。TRS 方法通常用作 HPLC 和 UV 分析方法的替代方法。具体的方法开发过程可能会有所不同，但是应考虑到：

- 设计要求
- 风险评估
- 方法开发
- 方法验证标准
- 持续监控及优化

在开发过程中，需要对参考方法和 TRS 方法的准确度、线性和精密度进行量化，以便根据监管指南进行有意义的比较 [1]。通过适当地随机化实际变量（例如，两种方法的仪器、操作人员 and 操作日期），并通过比较来证明两种方法的等效性。

在定量透射拉曼光谱中，该方法是用原方法的结果进行校准的。TRS 模型依赖于主要方法即 HPLC 方法，并且可以预测 HPLC 方法的结果。由于次要方法是用主要方法进行训练的，因此预测误差是主要方法和次要方法的总和。这是符合预期的，应必须允许其存在并在验收标准中加以解释。



1.2 评价模型是否成功建立

为测试该方法是否成功建立，必须根据合适的验证标准进行评估，该标准应在方法开发之前确定。

USP 章节 <1225> 药典程序的验证 [2] 提供了有关验证标准的定义和通用指南。ICH Q2R1 分析程序的验证 [1] 也提供了相关定义。

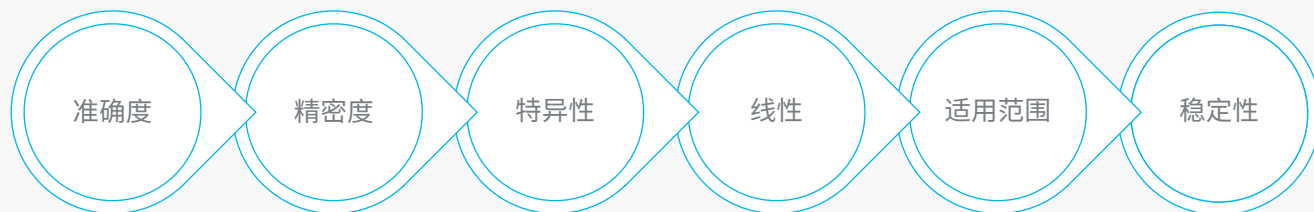


图 4. 用于衡量 TRS 方法开发是否成功的 ICH Q2R1 标准概述。其中每一条标准都将在后续章节中予以详述。确切的限值设置将取决于具体应用

1.3 生命周期概述

所有基于数据的分析方法都需要包含维护策略。

方法维护是定期评估方法正确预测可报告结果能力的过程，以及在必要时如何调整或重建模型的计划。该计划应包括监测模型诊断的策略和应对偏差或计划更改的行动计划。方法维护在许多参考文件中都有详述。

每种方法中都附有对方法生命周期中需要监测的关键因素的说明。在推荐阅读章节列出的多个参考指南中均提到了这些过程。

文献和指南只是提供建议，而不是一个僵化的框架。任何具体的应用都需要特定的检测/程序，只要这些检测/程序在科学上合理并且产生的证据能支持所提出的理由即可。该过程包含能进行迭代更新的周期性步骤，从而能够灵活地适应和改进。

根据相关指南和文献，TRS 方法开发过程可以分为 4 个关键步骤。如图 5 所示。

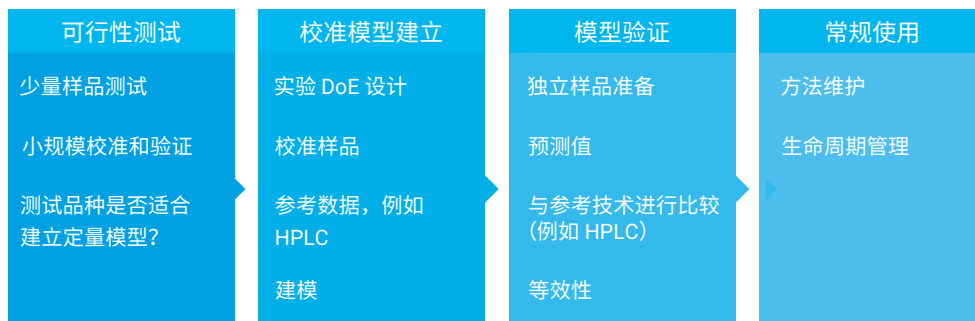


图 5. TRS 方法开发过程的四个主要阶段示意图

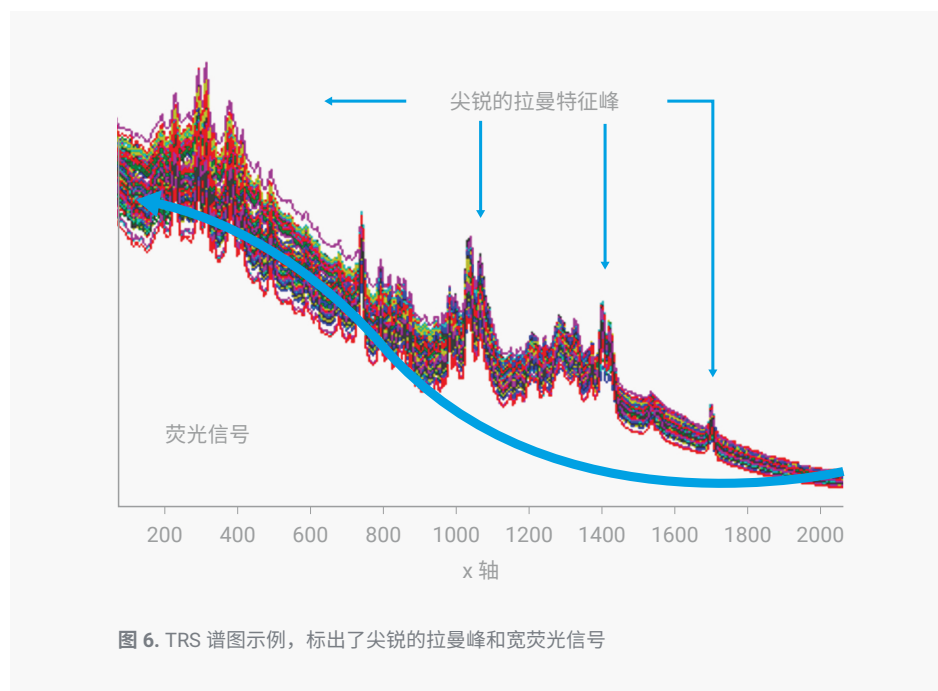
2. 基本原理

本节概述了 TRS 区别于其他光谱技术的关键点。请参见本文件末尾推荐的阅读材料。[3]

2.1 拉曼光谱

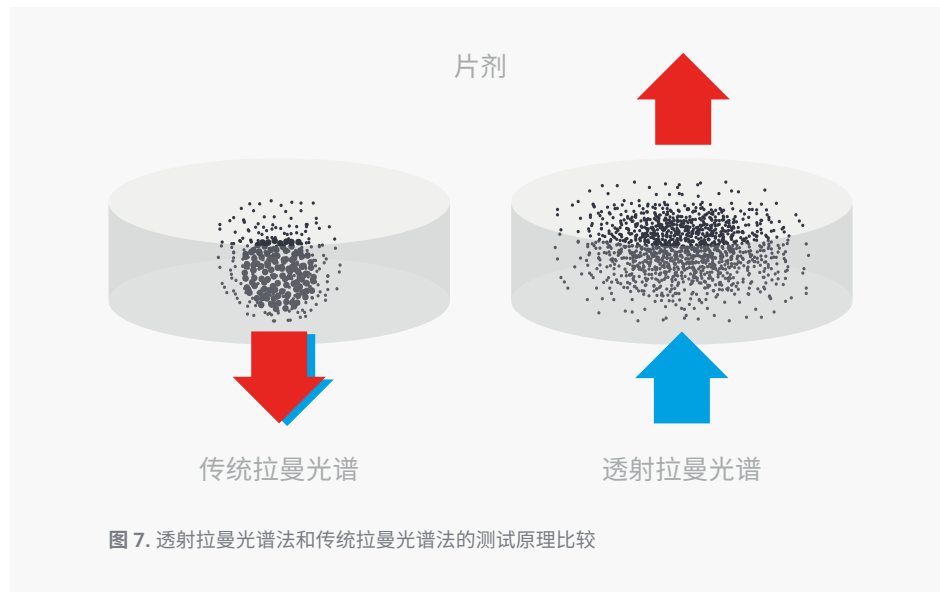
拉曼光谱是一种振动光谱技术，获得的光谱提供了所分析化合物的化学指纹信息。拉曼光谱存在清晰的尖峰，这些峰对应于化学官能团的分子振动。

药品的拉曼光谱很复杂，每种成分通常具有多个拉曼峰，其数量和强度相叠加，从而提供了整个样品的光谱。除拉曼特征峰以外，光谱还可能包含荧光峰。荧光是样品对激光辐射的额外响应，其表现为更宽的基础信号。如图 6 所示。

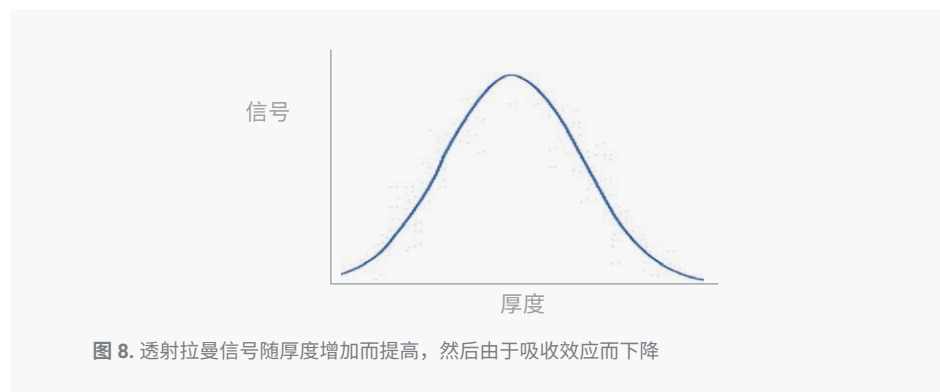


透射拉曼光谱是一种通过收集样品的散射光信号进行测量的方法。样品通常是不透明的，例如药片。激光光源和检测器位于样品的两侧，因此能够采集整个样品的拉曼信号。传统的拉曼仪器，无论台式、探针或手持式设备均采用背散射方式进行测量，即激光光源和检测器在同一侧。

背散射拉曼光谱产生的信号相对更强，但是信号倾向于代表样品表面的组成特性。由于在整个样品内的散射损失，透射拉曼响应较弱，但信号来源于整个样品。图 7 显示了当激光散射透过样品时，会产生透射拉曼光子，有助于测量较厚的样品。



检测器测得的透射拉曼信号的强度随着样品含量、厚度、散射过程等因素而变化。与吸收法不同，TRS 中拉曼光谱信号的强度相对样品厚度的函数存在一个最大信号值，通常在 2-3 mm 样品厚度处。这种结果是由于弹性和非弹性拉曼散射之间的平衡造成的。[4]



如需了解有关透射拉曼光谱的更多信息，请参见 [5-7]。

2.2 化学计量学

化学计量学是一门通过数据驱动的方法从化学系统中提取信息的科学。化学计量学本质上是跨学科的，它使用多元统计、应用数学和计算机科学等核心数据分析学科中常用的方法来解决化学、生物化学、医学、生物学和化学工程中的问题。维基百科 [8]

化学计量学最初被定义为使用数学、统计和其他方法的化学学科，这些方法使用形式逻辑来实现两个目标：(1) 设计或选择最佳的测量程序和实验，(2) 通过分析化学数据提供最大数量的相关化学信息。更具体地说，“化学计量学”是指应用多变量方法来分析化学或相关数据，尽管所讨论的算法可能是从几乎所有测量数据中提取信息，而不论其来源于化学、物理、生物、制药或其他。

USP <1039> 化学计量学 [9]

药品的透射拉曼光谱比较复杂；光谱中包含许多与复杂的成分混合物相关的特征峰。HPLC 是一种分离技术，可测量 API 响应（通常为 UV）的峰面积。这是一种单变量技术。

‘单’ = 一个 ‘多’ = 多个

拉曼光谱包含样品中每种具有拉曼活性化合物的多个峰，这些峰相互重叠形成复杂、信息丰富的分析起点。化学计量学（多变量分析）使我们能够对这种复杂的数据类型进行解卷积、趋势预测及分析。

常用的多元分析技术

模型类型	解释
PLS: 偏最小二乘法	定量模型 — 这是 TRS100 方法开发的主力工具
PCA: 主成分分析	定性工具，用于查看数据的固有模式和趋势
PLS-DA: 偏最小二乘-判别分析	分类模型，返回最可能的类别

如需进一步阅读，请参见 [10,11]

2.3 单位

对于 CU 测试，单个测定结果可以用 %LC (Label Claim, 标示量) 来表示，然后用于计算含量均一度的合格值 (Acceptance Value, AV)。

透射拉曼光谱的绝对光谱信号强度随组分的含量和厚度而变化。为测量 API 的浓度，将拉曼光谱归一化为相对强度测量样品的 %w/w。使用 TRS 时，我们通常只关心拉曼光谱的相对变化。



图 9. TRS 方法开发中的单位为 %w/w，当乘以片剂质量时得到剂量，当除以目标剂量时得到 % 标示量

3. 第 1 步：可行性分析 — 找出合适的测试品种

可行性分析是指在进行全面的方法开发之前找到合适的测试品种。

3.1 什么是合适的样品？

一些样品比其他样品更适合用 TRS 进行定量分析。一个重要的变量是激光打到样品上能够产生拉曼信号（非弹性散射）。

片剂非常适合；它们漫散射激光使其透过整个样品，因此获得的拉曼信号来自该样品的大部分区域。同一类型的片剂在大小和密度方面通常非常一致。

与无包衣的素片相比，包衣可能影响获得的拉曼信号量。带颜色包衣，尤其是红色或紫色等深颜色的包衣可能吸收激光信号，并且非常厚的样品可能会增加光程并减小拉曼信号。

粉末和胶囊也非常适合。由于胶囊、袋或瓶中的粉末会移动，因此这些粉末样品的采样体积倾向于变化，导致样品之间的绝对拉曼信号可能有所不同。在光谱的预处理过程中，可通过归一化来处理这种变化。

混悬液和透明液体是最不适合用 TRS 测试的样品类型。激光直接透过液体样品，降低了光散射和产生拉曼信号的机会。是否可行还取决于样品，例如纯溶剂或纯物质可能适用，但是水溶液因含有水而变得难以分析。

水的拉曼光谱频率比赋形剂和 API 高得多，实际上可以被忽略。然而，应评估并考虑水对样品成分带来的任何影响。

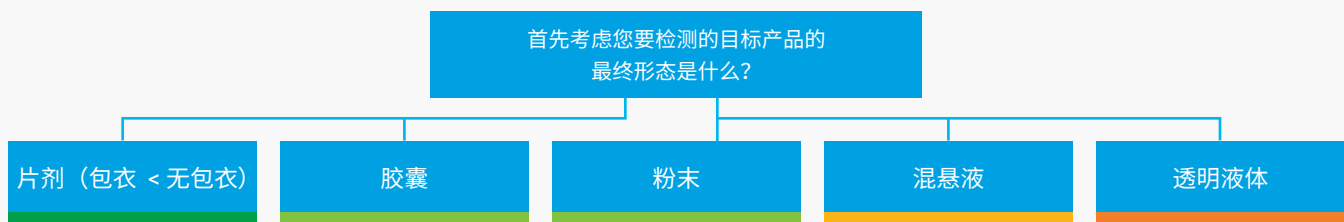


图 10. 不同类型药物是否能在透射拉曼上成功建模示意图

3.1.1 正在扫描的样品中包含哪些成分？

下一个考虑因素是制剂配方。根据经验，API 的 TRS 检测限约为 1%w/w。这当然取决于具体应用，如有文献曾报道过 LOQ 接近 0.2%w/w 的情况 [12]。一般而言，API 具有良好的拉曼散射信号；某些 API 优于另一些 API，并且有时 API 本身会带有荧光。制剂中的 API 含量越高，建模将会越容易。

在拉曼信号主要由 API 产生的情况下，辅料则很难检测到。在 TRS 中，任何一种成分的定量都与其他成分的含量相关，因为 TRS 测量值是整个制剂的质量浓度。这便关系到 API 与辅料的比值测定，所以辅料也必须是可量化的。包含少量辅料的高剂量 API 产品的分析可能具有挑战性。

辅料含量高也会影响对 API 质量浓度的查看、检测和定量分析能力。一般而言，以乳糖为基础的配方比纤维素更好，主要是由于以纤维素为基础辅料时会产生荧光。

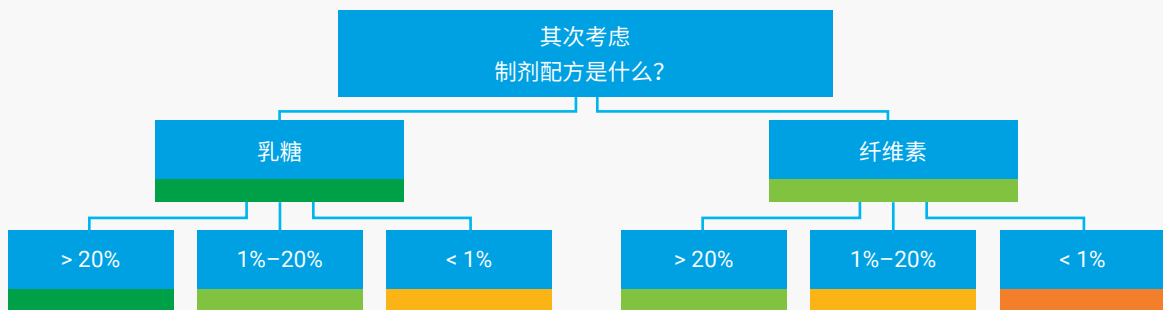


图 11. 考虑主要辅料和 API 质量浓度对能否成功建模影响的示意图

注：

对于袋装粉末样品，建议均匀、一致地填充袋子，移除块状物。最好是均匀的粉末层。1 平方英寸样品袋中可容纳约 100-700 mg 粉末样品。

用相同量的粉末填充样品袋，更容易判断各种辅料和 API 的拉曼散射能力。

鉴于以上所有信息，衡量是否能成功建模的最佳方法是扫描并检测！这是一种非常快速的方法。

3.2 找到合适的样品

为获得明确的结果，扫描并检测的方法将解答先前的假设。

要回答“我们能否检测到样品中的 API？”应分析最终产品、API 和辅料的拉曼光谱。



注：

在这一早期阶段，一种很好的做法是保存并打印纯组分的光谱，以学习并认识最常见药物成分的关键峰。

3.2.1 示例：扫描辅料和成品

图 12 中的示例是扫描纯 API、辅料和最终产品的结果。这个 API 光谱是典型的；清晰的尖峰，几乎无荧光。1600–1800 cm^{-1} 为羰基 C=O 或芳香族苄基官能团的特征峰。一般而言，这种化学官能团通常存在于 API 中，而不存在于辅料中。因此，1600–1800 cm^{-1} 的区域可用于快速鉴定药物样品，以查看光谱中是否存在 API 特征。纤维素基辅料（例如 L-HPC 和 MCC）具有荧光特性。乳糖具有良好的拉曼散射信号，谱图中有清晰的尖峰。

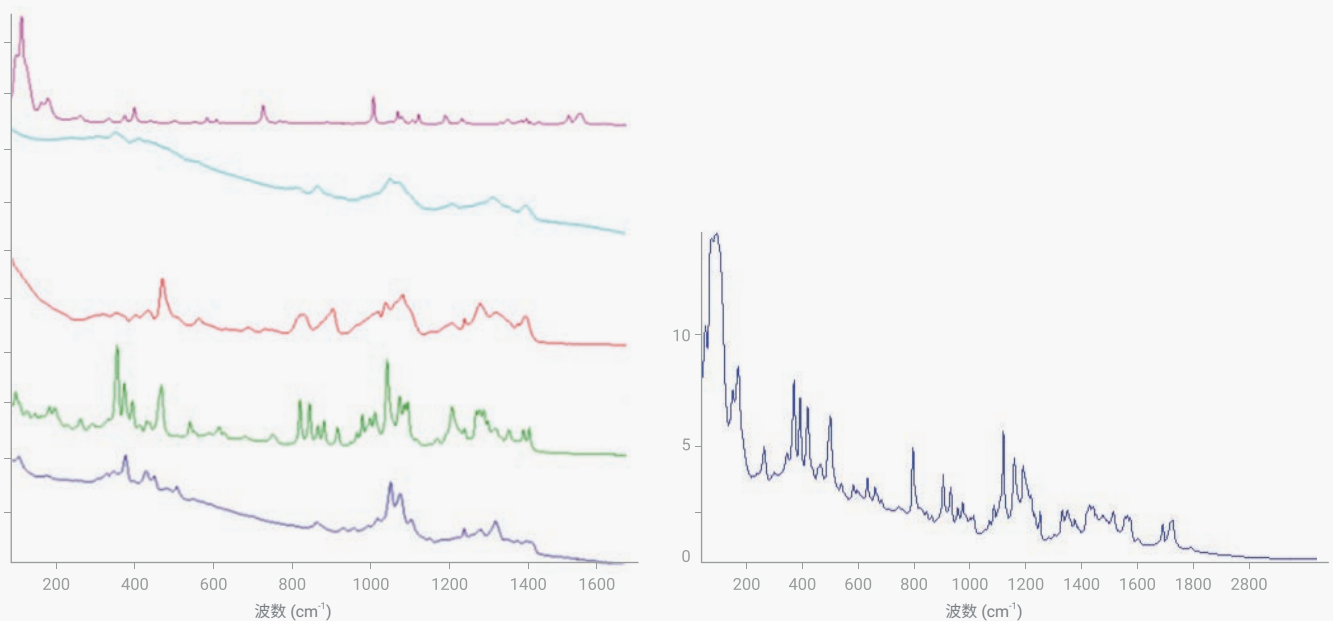


图 12. 纯组分光谱和成品片剂光谱的示例。查找片剂光谱中的 API 峰以确定成品中的 API

注 — 加标研究

加标研究**并非**可靠的校准。加标研究应仅用于可行性研究中。加标研究仅涉及一种物质的变化，因此在范围和可行性方面受到限制。

3.2.2 示例：加标研究

上面的示例相对简单，在片剂光谱中可以清楚地观察到 API 峰。如果无法清楚地观察到 API 峰，或者其与辅料发生重叠，或者难以区分哪个峰来自哪种物质，那么此时可以做什么？

加标研究可能会给出一些答案。

一种加标研究方法是：取一些成品（例如 10 片片剂），使用研杵和研钵进行研磨，并在合理的浓度范围内加入一些 API，如下方图 13 和 14 中的工作示例所示。

3.2.2.1 工作示例：加标研究

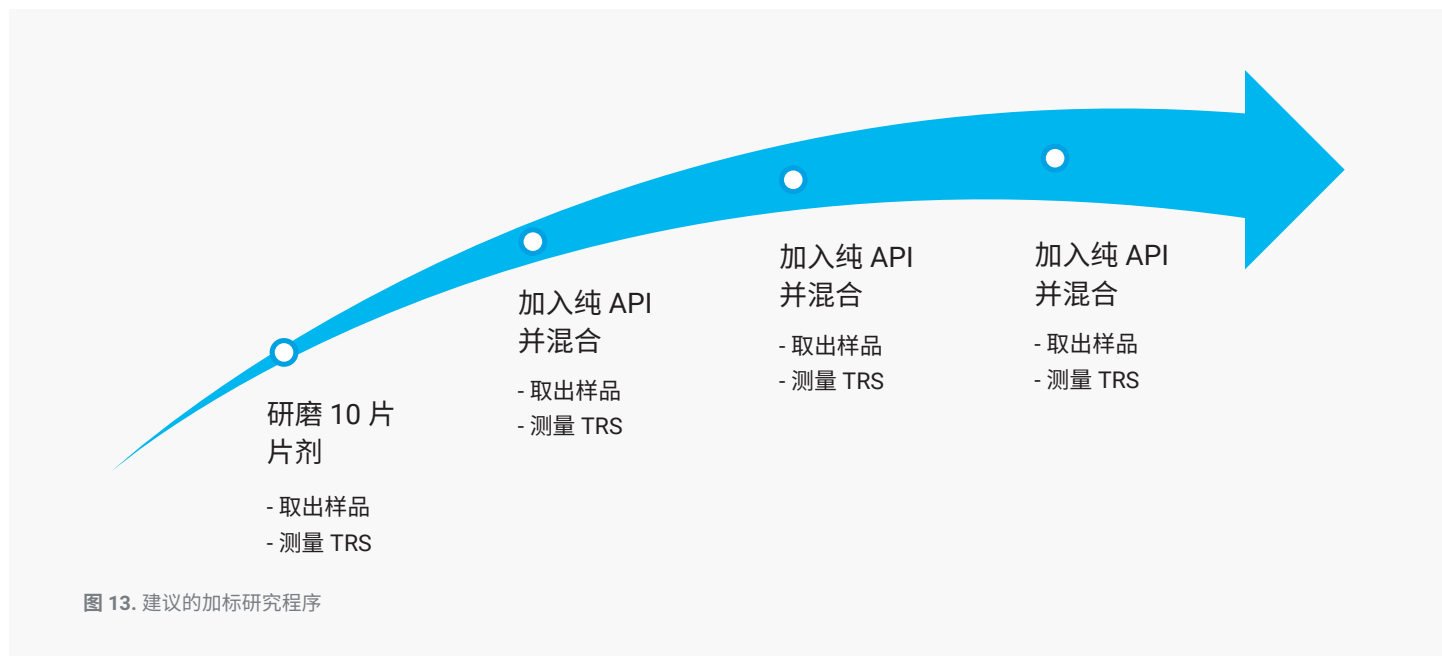


图 13. 建议的加标研究程序

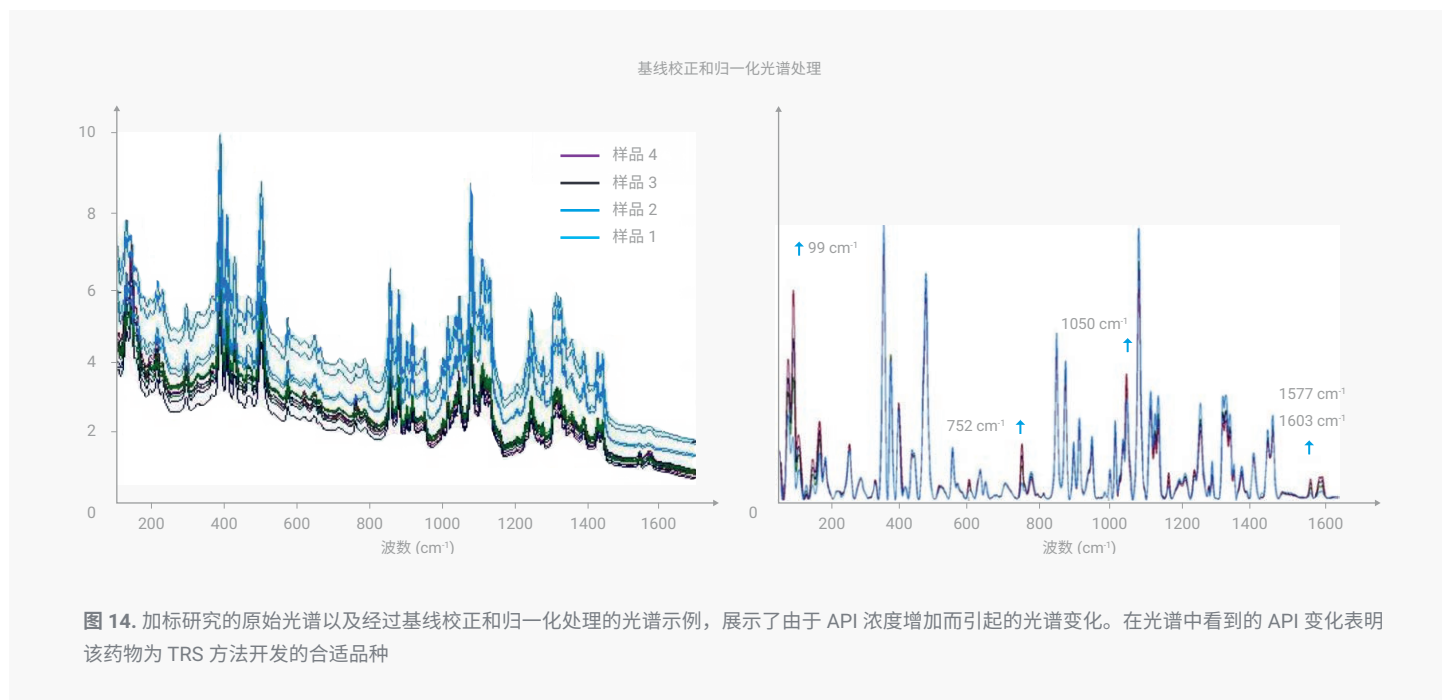


图 14. 加标研究的原始光谱以及经过基线校正和归一化处理的光谱示例，展示了由于 API 浓度增加而引起的光谱变化。在光谱中看到的 API 变化表明该药物为 TRS 方法开发的合适品种

3.2.3 其他考虑因素

每个具体案例可能略有不同，在扫描时需要不同的考虑。下面列出了一些针对特定样品的考虑因素。

- 演示示例：
 - 片剂
 - 通常优选片剂的中心进行扫描
 - 泪滴状片剂扫描时可能偏离中心采样体积最大的位置
 - 压花或印制图案可能影响测量，需要确定好光从哪一侧进入
 - 双层片剂 — 确定测量的侧边，以保持结果的一致性
 - 胶囊
 - 端部 — 分别扫描两端以确定效果
 - 中心 — 穿过两层胶囊壳
- 扫描位置的数量
 - 通常优选一个扫描位置
- 大剂量包装 — 扫描多个位置，确保信号一致并能代表整个样品

4. 第 2 步：校准模型建立

此阶段的目的是构建一个成功的校准模型来预测未知样品。此校准模型将在验证阶段进行测试。

4.1 制备样品

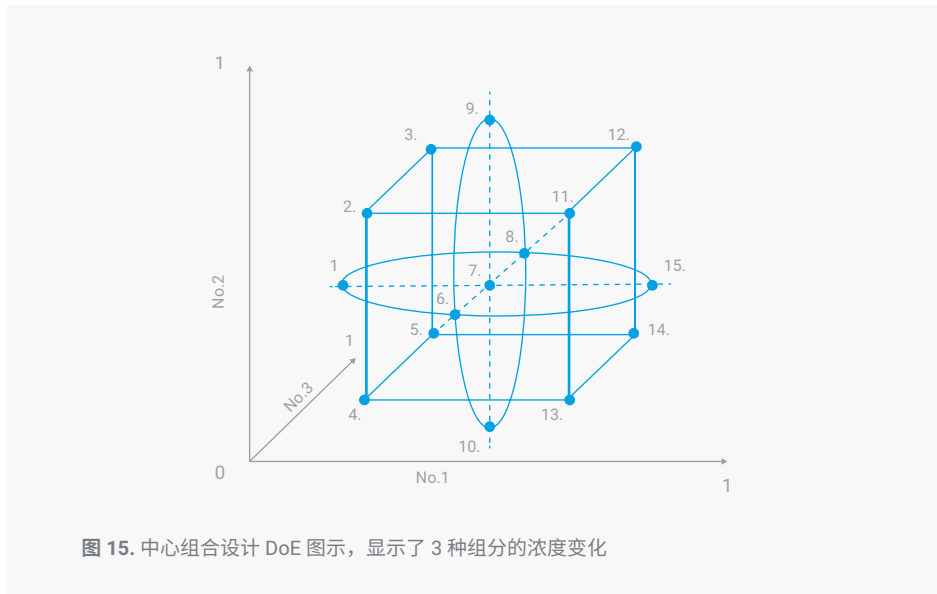
校准是分析科学领域一个常用的术语；利用一组已知的值作为测量标尺，以便与未知的值进行比较。

对于 HPLC，校准使用在参比标准品中含量已知的目标化合物（通过色谱法与其他分析物分离）作为样品，将其与测量样品中含量未知的该化合物的峰强度进行比较。

使用拉曼等光谱技术可以对药品中复杂的成分混合物进行测量。无法将各产品组分分离，因此，校准样品需要代表成品及所有组分。**由于各组分的浓度是相对的，因此需要所有成分的浓度都有变化。**

我们建议采用实验设计 (DoE) 方法，其中各个组分间的浓度独立变化。这样就创造了一个稳定的设计空间，并且以目标产品为中心。稳定的模型对生产变量的细微变化不敏感。任何在质量源于设计 (QbD) 方法的开发和提交方面具有经验的人员都应当熟悉这一点。

通常，DoE 可以涵盖 8 至 25 个样品。改变 4 个变量的 DoE 可以用多维数据直观地表示，该方法被称为中心组合设计。变量可能是 API#1、API#2、辅料 #2，以及用于质量平衡的主辅料 #1。单个变量可能是多个微量组分的组合，例如多个含量较少的辅料混合在一起计算。实际浓度样品由点 7 来表示，它们在图 15 中位于设计的中心。



如果一组校准样品中只改变一种组分（如 API）的浓度，则会造成非常狭窄的设计空间。这在可行性分析上没有问题，但模型将会对其他工艺变量的微小变化非常敏感，影响模型的稳定性。**不建议**采用这种方法进行稳定的校准模型设计！

4.2 选择哪种 DoE 设计？DoE 设计决策树

目前没有 DoE 设计必须遵循的既定原则。同样，应用的依赖性是整个方法中唯一的既定规则。

以下是一种可能为您提供帮助的决策流程。

注意，根据模型的性能，可以在校准中添加更多样品；它可以是一个迭代过程，可以根据结果来修改校准。此外，有时一次性制备所需的全部或大部分样品更有利于节省时间。

对于复杂制剂，可以将少量的和拉曼活性较弱的成分组合成“预混合物”，以减少需要分配的单个成分的数量，并减少称量少量组分造成的误差，如图 16 所示。

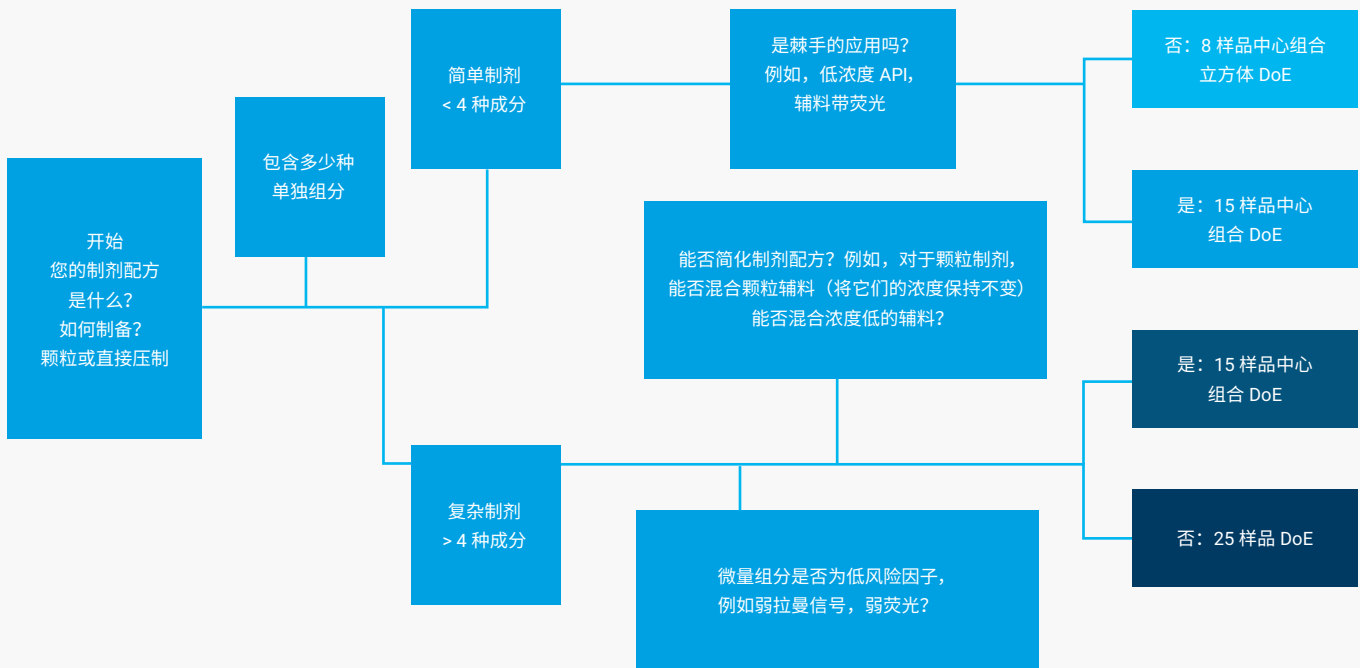


图 16. 实验设计的决策树

4.3 制备样品

当校准样品与预测的样品非常接近时，可以获得最佳的校准性能。样品制备过程中可能存在制剂因素（例如尺寸、形状）和基质效应（例如压片压力和粒径）。同样，样品制备不存在既定规则，每个具体项目都有不同的重要变量。

4.3.1 在压片之前扫描粉末

校准粉末混合物配置完成，在压片之前，使用 TRS 扫描这些混合物是“了解”样品制备是否成功的一个快速过程。每次扫描需要 10 至 60 秒，在压片之前用一点时间进行这一检测非常值得。

结果可能表明需要更多的校准样品，或者粉末混合不均匀。

4.3.2 提前考虑验证样品制备

可以将分配和制备校准样品与制备验证样品相结合；通常情况下没有必要将这个过程分开。

作为验证标准的一部分，最好制备具有相同浓度水平的重复样品，以证明样品制备的可靠性和准确度。

4.4 其他需要考虑的因素

由于各种药品工艺都是独特的，因此考虑可能影响拉曼结果质量的风险因素非常重要。这可能包括但不限于图 17 中所示的因素[13]。

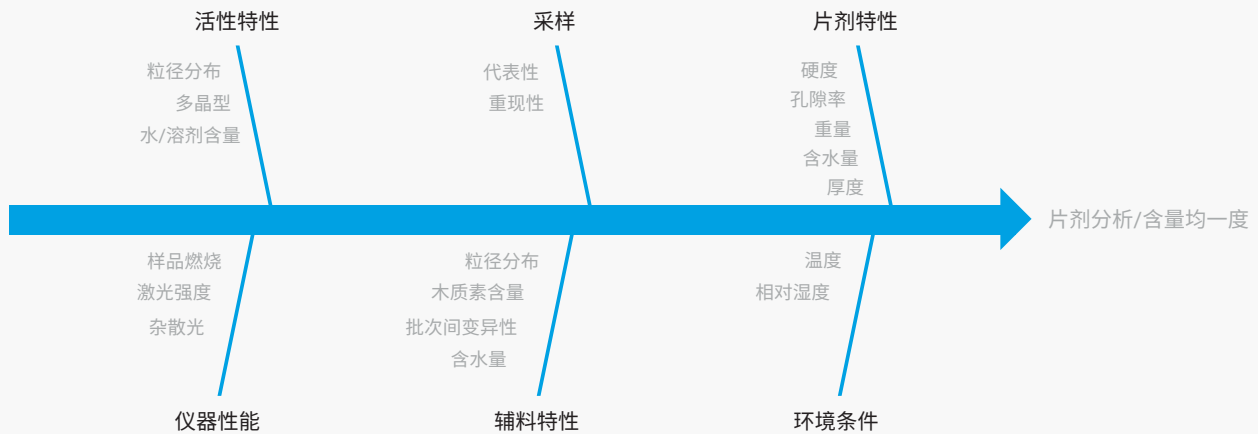


图 17. 需要考虑并设计到校准模型中的风险因素 [14]

4.5 测量样品

高质量的光谱将产生更高质量的化学计量学模型，并最终获得更出色的结果。本节将介绍如何选择参数及相关建议。

4.5.1 如何扫描样品

扫描样品时需要考虑以下两个因素：(1) 光学设置，即激光光斑尺寸和采集透镜选择；(2) 采集条件设置，即激光功率、扫描时间和扫描重复次数。

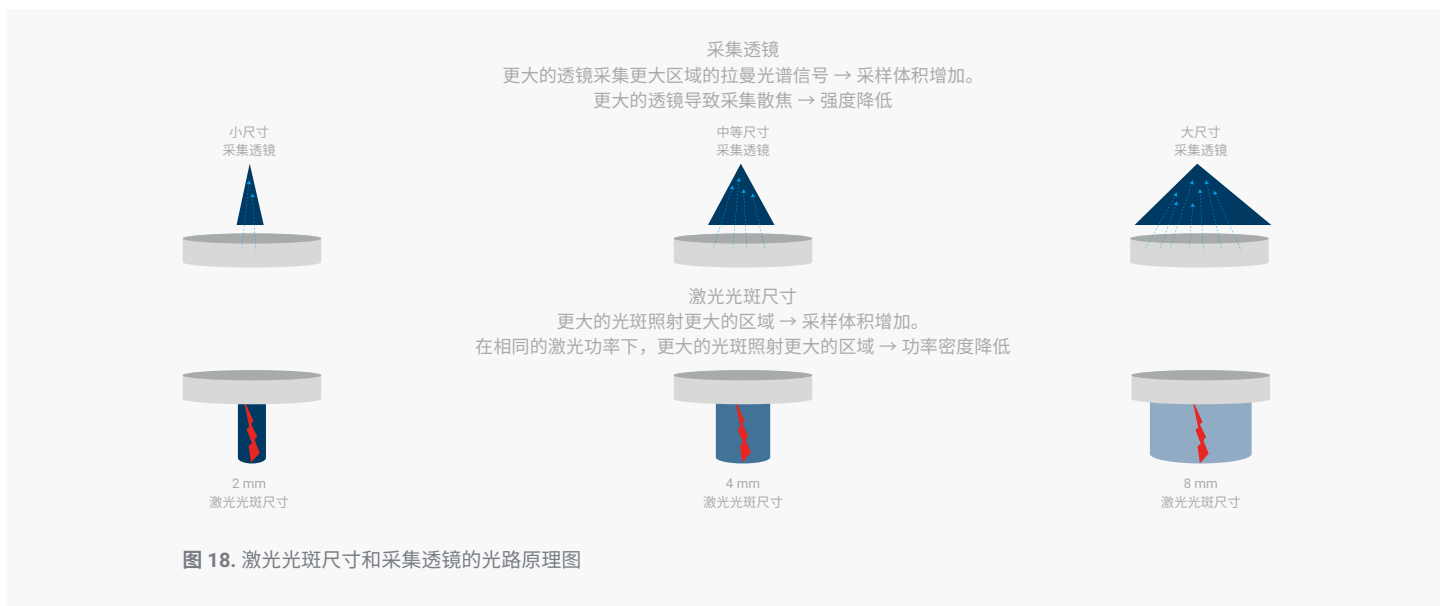
4.5.1.1 光学设置

TRS100 装置可以改变激光光斑尺寸和透镜收集光学信号的选项，见图 18。

激光光斑尺寸选项为 2 mm、4 mm 和 8 mm。每个光斑尺寸具有相同的功率和不同的功率密度，2 mm 激光光斑强度大于 8 mm 光斑。改变激光光斑尺寸会改变所分析的样品体积，较大的光斑尺寸可以降低照射到易损样品上的激光强度，例如，采用 2 mm 光斑尺寸可能熔化红色明胶胶囊。

可用的采集透镜包括小、中和大尺寸。透镜尺寸的增加将增加所分析的样品面积。激光和透镜设置的任何改变应当与待分析样品的尺寸和类型相匹配，确保照射样品时不会超过片剂边界。

作为方法开发过程的一部分，应考察透镜和光斑尺寸的影响。经验表明，4 mm 的激光光斑和中尺寸透镜适用于大多数片剂和胶囊。同时，在不同采样位置进行多次采集，可以提高有效采样量。



4.5.1.2 采集条件设置

TRS100 的最大激光功率为 650 mW，如果需要可以在软件中将其降低。相机曝光时间和累积次数也可以在软件中进行设置，应始终进行谱图多次累积设置以避免 γ -射线伪影。

检测器的信号饱和极限约为 65000 能量值；但是在优化采集设置时，建议使用以下工作流程尽量将信号能量值控制在 40000 左右：

- 在 0.65 W 下扫描样品 1 秒钟和 1 次累积
- 观察谱图
- 设置曝光时间：
 - 如果响应值小于 40000，则延长曝光时间
 - 如果响应值大于 40000，则缩短曝光时间
 - 如果在 0.01 曝光时间下的响应值大于 40000，则减小激光功率
 - 重复以上操作，直至在适当的曝光时间下获得约 40000 的响应值
- 增加累积次数
 - 必须大于 3
 - 对于大多数样品，理想的总扫描时间（曝光时间 × 累积次数）约为 10 秒
 - 最佳累积次数始终取决于具体样品
 - 可首先测量 10 秒并观察信噪比，再设置为约 60 秒观察信噪比是否显著改善
 - 在不同累积次数下采集的数据的模型性能可以指示模型空间中的信噪比是否受到限制

4.5.1.3 关于谱图信号饱和的说明

拉曼峰通常在低波数区域较强；这是由于在低波数区域检测器效率（量子效率或 QE）高或相机将光子转换成电子信号的能力较强，而在更高的波数下观察到拉曼强度较弱。

药品的拉曼峰通常在较高的波数（约 1600–1800 cm^{-1} ）下比较明显。如果预测模型时只需要利用工作范围内的信号，那么为了提高较高波数区域内 API 信号的信噪比，通过增加曝光时间使低波数区域峰饱和是可以接受的。

尽管检测器范围较宽，但也应避免产生大于 40000 的光谱强度谱图，因为检测器响应可能呈非线性，因此会增加模型构建和预测的误差。光谱范围可以作为模型建立过程的一部分进行选择。

在没有应用 Y 轴强度校正或绿色玻璃校正的原始光谱中，应当能观察到饱和极限。

4.5.1.4 重复扫描 — 关于光漂白的注意事项

荧光是受到激光照射的药品的一种竞争发射过程（第 0 节）。重复扫描时，荧光组分可能表现出荧光强度连续降低 — 这种效应称为光漂白。这可能会影响拉曼测量和模型预测。可以采用一些方法来减轻和减少光漂白的影响，例如，可以在模型中对相同样品进行多次测量，以训练模型识别光漂白的影响。

软件中可支持样品袋和样品盘重复多次扫描的功能有助于此类分析。

4.5.1.5 重复扫描 — 均匀性扫描

可以扫描同一样品的多个位置，从而获得有关样品光谱均匀性的信息。这在粉末混合均匀度应用中或者已知存在结块问题的给定应用中尤其有用。这可以成为可行性分析的一部分。

4.6 模型建立

有许多教科书和讲座课程专门介绍化学计量学分析和模型建立 [3,10,11]。本指南的目的不是重复那些内容，而是总结透射拉曼光谱方法开发过程中最常见的工作流程和决策。

根据前面的章节，在考虑配方来进行 DoE 设计和样品选择时，可行性扫描可以帮助确定用于校准和验证的 DoE。在任何情况下，模型建立都可以是迭代的，并可能导致制备或包含更多样品参与整个过程。

模型建立过程的输出结果不一定是固定的 — 在科学有效的前提下，可以使用新的包含或排除的数据来更改、更新或修改模型。通常情况下，校准和验证测量样品制备可以一起完成，以免浪费时间和费用。

总而言之，TRS 数据与近红外的数据在形式和结构上都有所不同。拉曼峰通常是尖锐的，并且对于各种组分具有高特异性。建立近红外校准模型的经验并不一定适用于 TRS，因此在将近红外原理应用于 TRS 数据时应更加慎重。

4.6.1 如何构建模型

4.6.1.1 样品选择

模型中包含的样品应具有按照上述指导进行测量或预测样本的代表性，并应遵守 QbD/DoE 原则。

术语：

- 加载到模型中的光谱将成为 X 模块
- 加载到模型中的浓度将成为 Y 模块

4.6.1.2 光谱区域选择

有多种方法可用于选择要包含在模型中的光谱区域。光谱选择可以是整个光谱或较小的目标区域。在模型建立过程中，务必去除饱和区域。TRS100 的限值是每次累积到 40000 的能量值。光谱区域选择可以按照以下迭代过程来进行：更改 > 建立模型 > 查看它如何影响结果 > 更改。

建议流程如下：

- 从完整光谱区域开始
- “顶部和尾部”：< 200 cm^{-1} 通常是饱和的，> 1900 cm^{-1} 通常不含拉曼峰
- 接下来重点关注 API 和辅料的关键区域。重要的是将 API 和辅料表示为 %w/w 以用于定量分析。至少需要两种及以上拉曼活性成分之间的比值

4.6.1.3 化学计量学预处理选择

通过预处理光谱数据操作可以优化模型性能。预处理应尽可能增加目标光谱的差异，例如 API 浓度变化，并尽量减小其他因素（例如厚度）的影响。

对于透射拉曼光谱，通常执行三个预处理步骤。

免责声明：

这并非强制规范；不同项目可能需要不同的选项以获得理想性能。多个预处理选项可能会提供类似的模型性能 — 可能没有最佳选项，但操作人员可以从中进行选择。

注：

可以在一个模型中加载多个 Y 模块，以预测多种成分。

注：光谱预处理提示

绘制基线校正和归一化光谱并根据 API 浓度以不同的颜色进行显示，以此来展示光谱变化并与纯组分光谱进行比较，是一种良好的工作实践。

如果您能够看到与 API 浓度相关的谱带，则表明建模将会取得成功。

第 1 步：基线校正

消除通常不会关注的荧光背景。例如，Whittaker 基线校正、一阶导数、二阶导数。

第 2 步：归一化

消除整体的相对强度差异，因为我们关注的是质量浓度的变化。这样大大减小了由样品厚度等因素引起的差异。例如，归一化、SNV、MSC。

第 3 步：均值中心化

通常适用于拉曼数据；从每个光谱中移除整个数据集的平均值。这移除了所有共同特征，只保留差异。

4.6.1.4 存在多少潜在变量？

作为模型建立过程的一部分，您可以选择更改潜在变量的数量来建立模型。

潜在变量 = 主成分 = 因子。术语通常可互换使用。

潜在变量是光谱响应，模型使用它将给定浓度（Y 模块）与光谱（X 模块）关联起来。潜在变量应与待测化合物的光谱明确相关。这是 TRS 相对于近红外光谱（NIR）的一个明显优势，在 NIR 中组分并不能总是清楚地分辨出。

应尽可能少地使用潜在变量以防止过度拟合。根据工作经验，潜在变量应小于或等于 $N+1$ ，其中 $N = \text{DoE}$ 设计中不同因子的数量。同样，这也是 TRS 的特异性优于 NIR 的一方面的表现。

校准模型中的潜在变量越多，表现性能就会越高，因为来自实验的任何噪音都会被整合到模型中。然而，该模型预测新的独立样品的能力可能受到影响。这将通过验证样品和独立样品进行测试。

4.6.1.5 模型优化

从上面的信息中可以明显看出，模型建立是重复进行和迭代的。化学计量学软件包中的一些工具可以加快这一模型优化过程。最好的做法是用良好的科学判断来解释模型输出，而不是仅仅依靠计算输出，即确保您所做的工作是有科学意义的！

4.6.1.6 交叉验证

交叉验证是一个发生在校准阶段的过程，通常在化学计量学软件包中自动完成。它涉及通过包含或排除样品的各种迭代来建立模型，并查看该模型如何预测剩余样本。其目的在于通过添加和移除样品测试模型的稳定性。

软件中包含各种可用于执行此操作的算法，但是默认选项通常足以满足要求。

4.6.1.7 何时模型才算“足够好”？

在追求尽可能最好的模型时，很难确定终点，因为模型始终可以进行调整和更改。目的是建立一个稳定可靠的模型，能够充分满足您的检测要求。模型统计是这一决策过程的一部分。您能够使用独立样品验证模型以完成模型开发，并根据验证标准对其进行测试。

在分析验证样品之后，用户始终可以通过物理样品、测量结果或现有模型数据重建来重新审视校准过程。

4.6.2 如何解释模型的性能

化学计量学建模的输出提供了许多图形和数字来解释。下一节将介绍关键因素。

4.6.2.1 模型统计

图 19 是一份展示模型性能的重要图表。该图显示了导入的 Y 模块（浓度）中描述的样品的“实测”值和模型生成的“预测”值。这两者之间的线性拟合表明该模型能够将光谱与给定浓度充分关联起来。其衡量指标是 R^2 。 $R^2 > 0.95$ 通常被认为是一个较好的值。

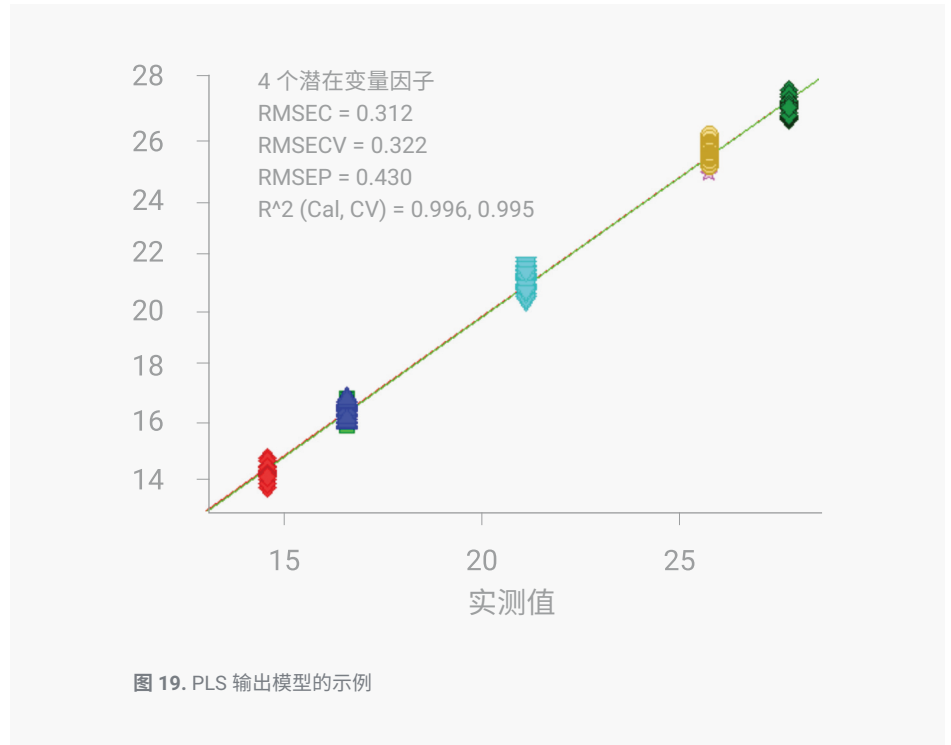
均方根误差值 (**RMSE**) 是模型误差的衡量指标。

RMSEC: 校准的均方根误差

RMSECV: 交叉验证的均方根误差

RMSEP: 预测的均方根误差（仅通过独立的验证样品获得）

RMSEC 和 CV 应当很低并且大致相同。如果 $RMSEC \approx RMSECV$ ，则表明模型可以在移除校准样品时稳定地预测校准样品。



其他模型统计指标包括 Hotelling 和 Q 残差，用于判断校准样品组中的模型性能和样品质量。这两个统计指标描述了校准空间内样品的关系或相似性，如图 20 所示。

Hotelling: 描述样品与校准空间中已有信息的关系，例如，成分的浓度极值。

Q 残差: 描述样品与不在校准空间中的信息的关系，例如在校准中未观察到的特征（例如未知化合物的噪音）。

作为一种良好的工作实践，大多数校准样品应位于校准空间的 95% 范围内；可以存在异常值，但中心浓度点不应当是异常值。这点符合预期，因为作为 DoE 的一部分，所有成分的浓度将远离目标中心点而变化。

Hotelling 和 Q 残差图是识别整个样品或单个样品的光谱异常值的好方法。良好的样品制备和数据采集应该使得来自 DoE 的同一片剂的多次扫描结果聚集在一起。用于排除样品的良好工作规范应当是完全合理的，例如，样品 X 易碎且易损。这是由于样品 X 处于 DoE 的边缘，包含极低浓度的辅料 X。样品 X 的光谱是 Hotelling 中的异常值，因此被排除在模型空间之外，因为它们不是能代表生产质量的片剂。

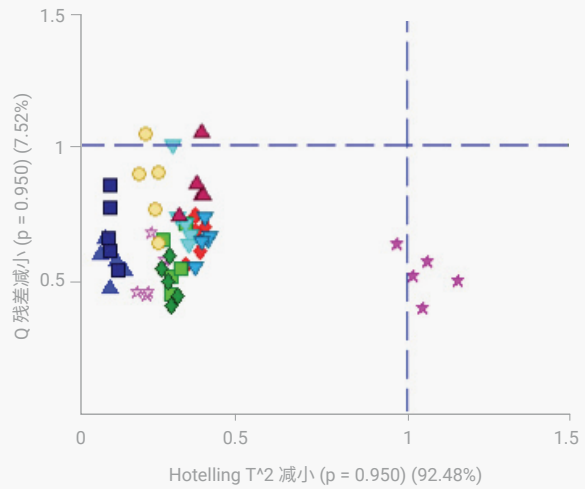


图 20. Hotelling 和 Q 残差图。蓝色虚线表示限值为 95%。在本例中，粉色星形表示异常值，并且由于一种成分的极端情况而远离其他样品。相同颜色的样品彼此靠近，这是一种良好的定性属性。剩余样品全部处于限值范围内或非常接近限值，其结果是可以接受的

4.6.3 参考数据：等效性 — HPLC 与拉曼误差

什么是 Y 模块？用于建立模型的浓度来源可能会随着时间的推移而变化。通常的做法是使用 Y 模块的重量分析值开始建模，这样可以快速获得结果。但是，重量分析值可能无法代表样品中的实际情况，需要考虑加入相应的参考测量值。

如图 21 案例所示，假设标称 LC 为 80% 的一组样品是相同的；但是，在添加各个 LC 值时实际测试浓度范围在 76% 和 86% 之间。

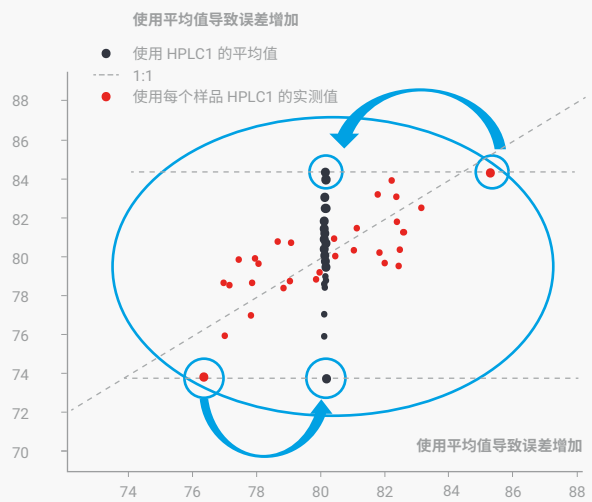


图 21. 将 HPLC 结合到模型开发中带来的影响

将 HPLC 值整合到模型中对模型性能的影响如图 22 所示。使用 HPLC 值，模型统计得到改善，从而提高了 R^2 并降低了 RMSECV 值。

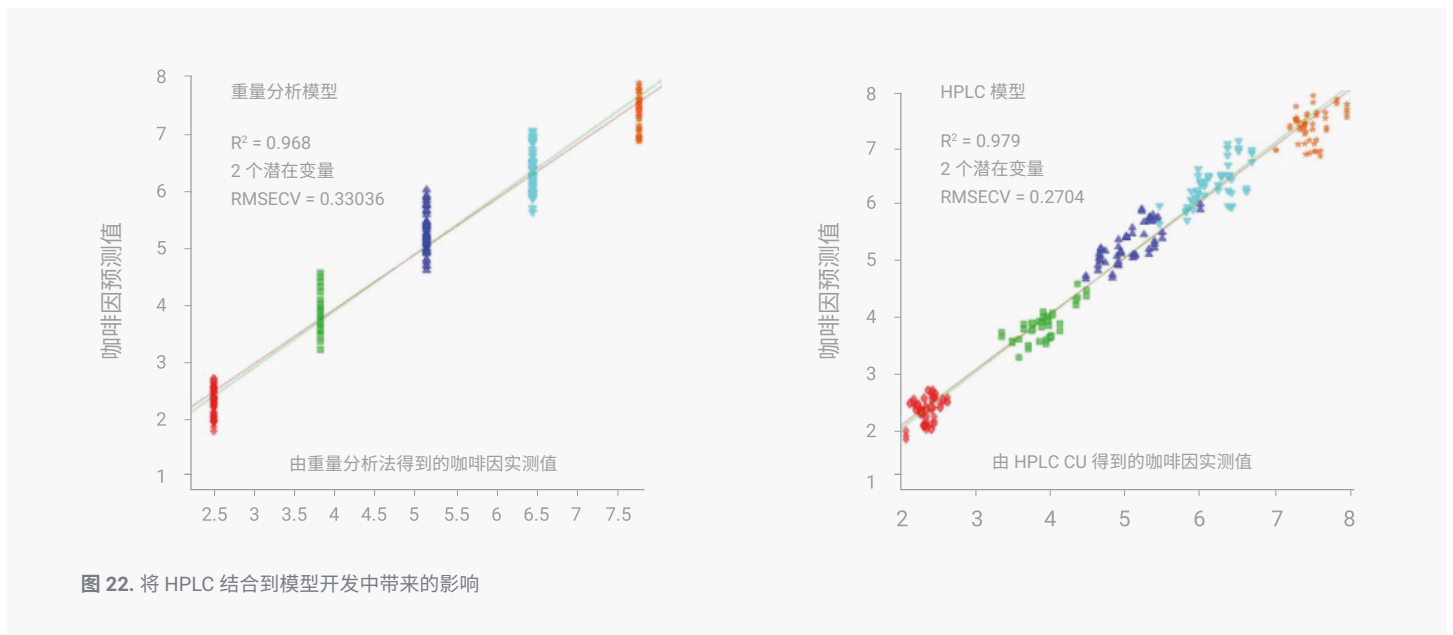


图 22. 将 HPLC 结合到模型开发中带来的影响

引入其他技术测试结果并不总是能够改善模型性能。更准确地称量样品并保证相同浓度样品尽量一致是建立一个好模型的关键。

误差:

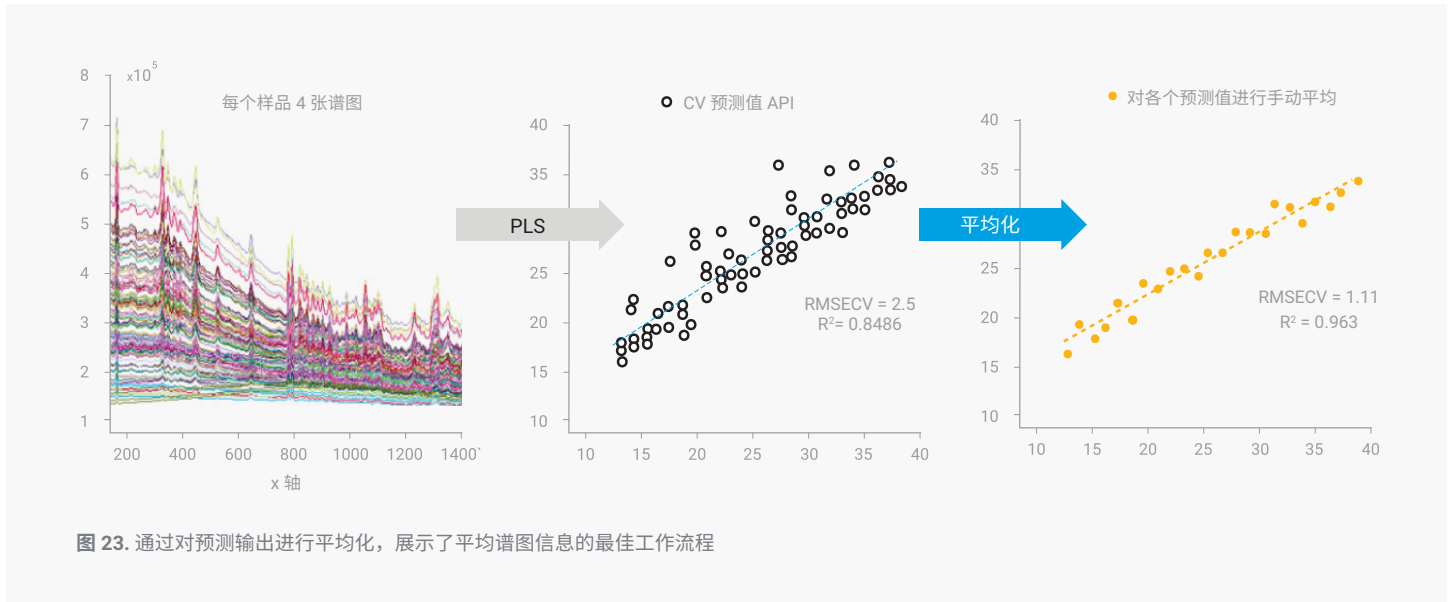
TRS 模型误差 = TRS 误差 + 参考技术误差，例如 HPLC。

通过使用 HPLC 误差作为 Y 模块，可以将 HPLC 误差整合到 TRS 模型中。这意味着预测误差决不会小于 HPLC 误差。一个有用的方法是 TRS 在等效模型中预测 HPLC 结果，而不是 API 的浓度。因此，它通常被称为次要方法。

考虑到上述情况，任何方法的验证标准都应该适当地设定。对于次要等效方法（例如 TRS），预期误差将比 HPLC 方法大。

平均化

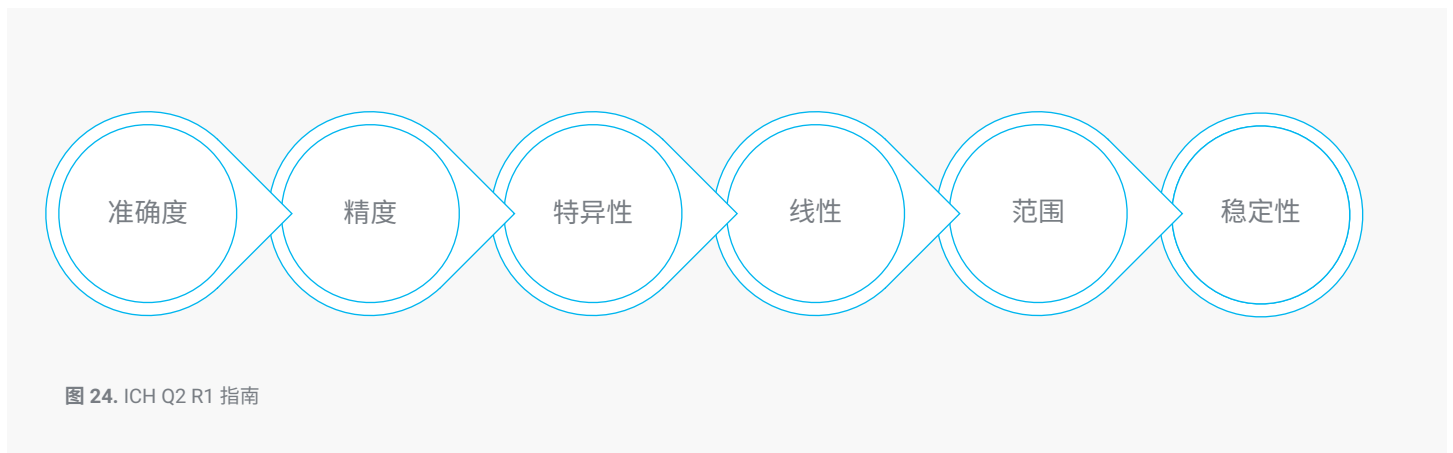
这部分是有关光谱平均化的最佳实践的简要介绍。这可能适用于在需要单个预测值的情况下，对一个粉末袋装样品进行多次扫描的效果。最好的做法是在建模之前的预处理步骤中平均预测输出，而不是平均光谱。通过这种方式，模型能够“学习”更多的不确定度或噪音。



5. 第 3 步：方法验证

验证是测试校准模型的过程。它将完成生成稳定可靠的校准模型的过程，然后确定模型可用于常规使用。与本指南中的每个步骤一样，确切的验证过程可能取决于具体应用，并且遵循的方案略有不同。本节将讨论最佳工作实践和相关建议。

如何衡量和证明方法成功的相关提示如图 24 所示。



5.1 使用何种样品进行验证?

为适当地测试校准模型，应当使用合适的验证样品；同样，这可能取决于具体应用。

验证样品应独立于校准样品。比如：

- 产品样本
- 好的样本
- 不良样本
- 涵盖校准空间并能测试模型的样品
- 包含生产过程中的预期变化的样品
 - 捕捉天然的 API/辅料/工艺变化
 - 采集不同时间点的不同批次的样品

5.2 准确度验证

指南建议：

“在整个程序的特定范围内，应该通过与验证参考方法的结果比较来验证建立模型的准确性。” [14]

图 25 显示了与主要参考方法 HPLC 法比较的 TRS 预测结果示例。使用相同的单位对技术进行比较非常重要，请参见第 2.3 节“单位”。拉曼方法生成 %w/w 结果，而 HPLC 生成每个样品的 %LC 结果。为便于对比，通常需要使用片剂重量进行转换： $\%w/w \times \text{片剂质量} = \text{mg 活性}$ 。

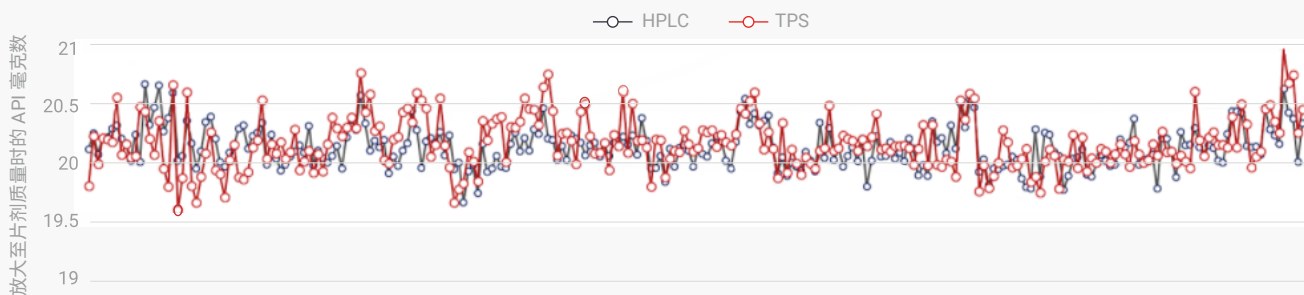


图 25. TRS 预测输出与主要参考技术（在本例中为 HPLC）的比较

预测误差的关键化学计量学统计指标是 RMSEP，即预测的均方根误差，请参见第 4.6.2.1 节“模型统计”第 0 节。该指标确保模型能够很好地泛化，并在模型“未发现”的新独立数据上实现相同的性能。因此，应将 RMSEP 值与 RMSEC 和 CV 值进行比较，以避免数据过度拟合。

$RMSEC \approx RMSECV \approx RMSEP$

给定应用的成功标准可能有所不同，但可能包括：

- RMSEP
- 使用统计学检验，例如 t 检验或 f 检验
- 置信限值

5.3 精密度验证

指导建议：

“应确定指定范围内的重现性和中间精密度。” [14]

使用 TRS 对样品进行重复扫描是快速和无损的，因此这些信息很容易获得。通常建议针对多个浓度点进行此操作，而不仅仅针对中心点或生产的样品。通过确定 %RSD 变化限值来判断是否取得了成功。

表 1. 精密度测试示例

精密度	中间精密度	仪器间
同一天	多天，多名分析人员	多台仪器

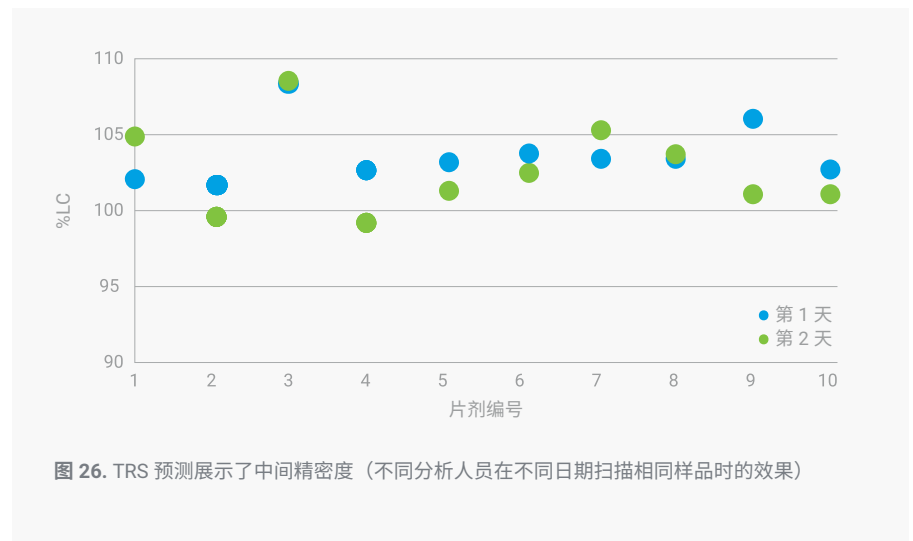


表 2. 10 个片剂样品在 2 天内的精密度数据示例，表格中包含了 TRS 结果与主要参考技术 HPLC 结果的比较

	第 1 天	第 2 天	第 1-2 天	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
平均值	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. 针对特定的分析应用，将分析参数与预设的可接受限值进行比较的示例

分析参数	可接受标准	结果	状态
准确度/特异性 (平均差 HPLC-TRS)	NMT 5%	片剂差值 3.0%	合格
精密度 TRS 重现性 中间精密度 (%RSD)	NMT 5%	第 1 天 片剂差值 1.8% 第 2 天 片剂差值 2.5% 平均值 片剂差值 0.7%	合格
*质量标准 (平均值)	平均值不超过 15	50 mg 片剂差值平均值 8.2	合格

注：

或者，也可以使用回归向量或 VIP 评分。

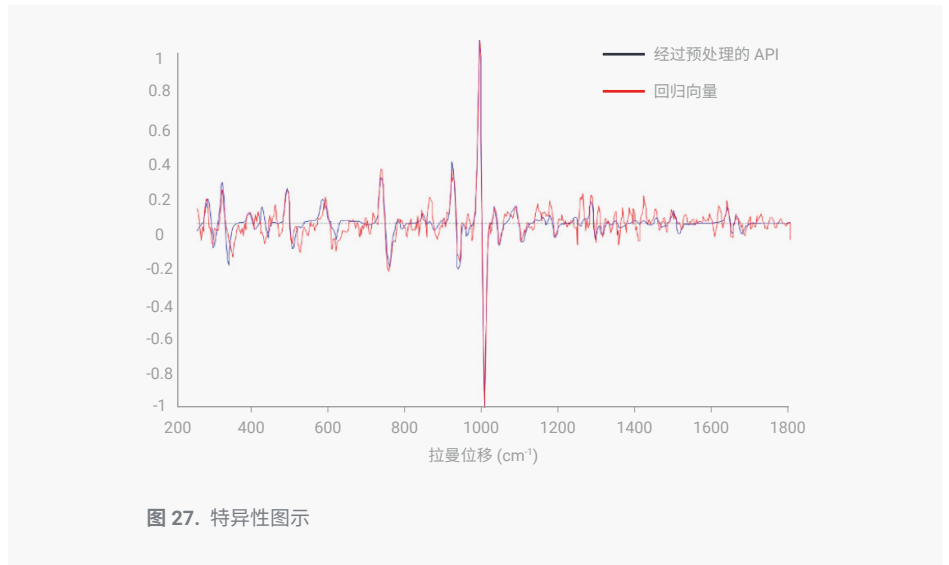
5.4 特异性验证

指导建议：

“模型应当能够在其他组分存在的情况下明确地识别分析物。” [14]

药物样品的拉曼光谱是所有组分的混合谱图。通常，模型开发过程仅关注目标化合物（例如单个 API）的测量。如化学计量学第 0 节中所述，潜在变量是模型用于生成校准浓度和给定浓度之间的回归关系的光谱特征。第一个潜在变量是最显著的（至少在光谱方面）成分。

我们可以比较潜在变量（理想情况下是第一个变量）与方法开发可行性阶段中采集的纯组分光谱，从而证明其特异性。如果这些光谱类似，则证明针对目标分析物的建模正确。如图 27 所示。



注 — 加标研究：

注：HPLC 通常得到 $R^2 > 0.99$ 。HPLC 线性是对检测器及不同浓度的响应线性的评估。相比之下，在光谱技术中是对两种方法之间的比较进行评估。[15]

5.5 线性范围验证

指导建议：

“为证明线性，验证组中的样品分布应在整个指定的范围内。” [14]

通过绘制实测值与预测值之间的关系， R^2 值表示验证范围内的线性关系。 $R^2 > 0.95$ 通常是可接受的。

5.6 稳定性验证

指导建议：

“证明光谱模型稳定性的证据应涵盖化学和物理变量、采用的测试条件、采样和样品制备以及测试过程中参数的变化。” [14]

如前面章节所述，稳定性测试将完全取决于具体应用。示例包括：

- 化学变化
- 原料变化
- 采样
- 样品准备

对压片压力大小的稳定性的示例如图 28 所示。不同的颜色表示三种不同的压片压力。实测值与预测值的关系图（左下图）表明，所有样品都可以得到很好的预测，其中 $R^2 \approx 1$ ，并且 RMSE/CV/P 值较低且相近。然而，在 Hotelling T^2 和 Q 残差图（左上图）中观察到一些分离现象。该模型识别出不同压片压力大小下样品之间的细微光谱差异。用户可以决定使用 Q 残差作为压片压力变化的限值或警报。

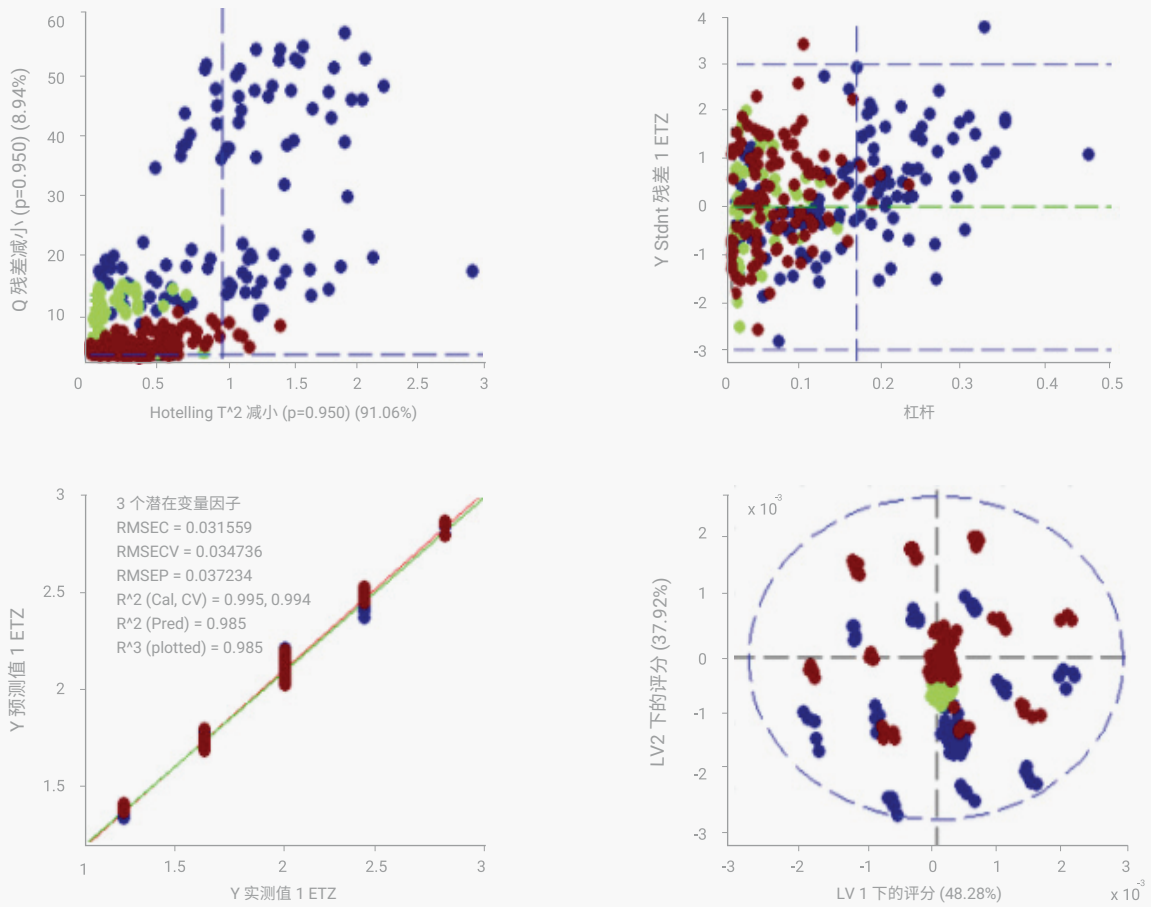


图 28. 表明稳定性随压力变化的示例

另一个关于辅料供应商对稳定性影响的案例如图 29 所示。不同辅料供应商（不同颜色）的预测结果类似， $R^2 \approx 1$ ，并且 RMSC/CV/P 值较低且相近。

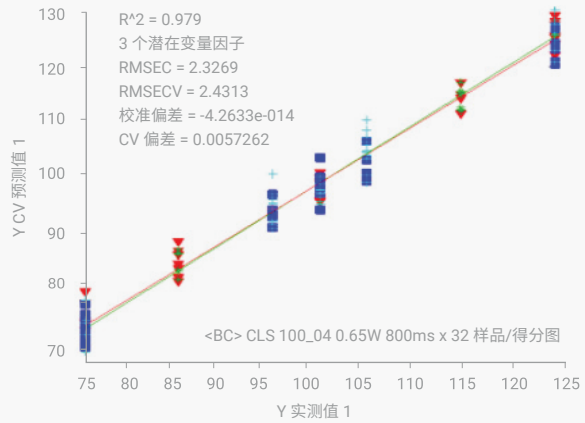


图 29. 展示了不同辅料供应商对模型稳定性的影响

5.7 如果我的模型不理想该怎么办？

方法开发过程是迭代式的。如果一组特定的参数或校准样品未产生足够出色的结果，则可以对其进行改进。

可以实施的改变包括：

- 在校准中添加更多样品：这可能引入一些已知变化的样品，例如采用不同压片压力制备的样品
- 移除样品：只有在科学合理的情况下，才可将样品从校准中移除，例如，它们易碎且不能代表生产质量
- 更改测量设置，例如，如果模型性能受到信噪比限制，可延长曝光时间

根据 QbD 原则，在拉曼方法开发的所有决策过程中都应该遵守合理的科学逻辑。如果在建模开始时已经充分分析了所有的风险因素，那么所有预期的样品制备中的工艺变化都应在考虑之内，这将最大程度减少返回和制备更多样品的需求。

6. 第 4 步：方法生命周期

6.1 模型维护、更新和生命周期

法规指南中指出，由于计划内变更（通过所实施的更改控制策略，按照内部质量程序进行管理）和计划外变更，光谱方法可能会在初始监管申请后随时间而发生改变。

6.1.1 方法范围内的变更

在方法范围内的光谱方法的变更应按照本程序进行验证，但是不要求规范变更。应对此类变更进行风险评估，并通过良好的科学、制造及工程实践和控制措施来降低任何已识别的风险。此类变化的示例包括在校准模型中添加光谱、调整采样装置以及软件升级等。

在方法范围内的生产工艺的变更，如原材料和供应商发生变化，应通过对至少一个批次进行平行测试来进行评估。如果更改后的光谱通过了光谱检查并且结果符合规定的精密度、准确度和回收率可接受标准，则无需修改光谱方法。否则，应利用生产过程、原材料、供应商更改后制得的样品光谱对方法进行更新。无论光谱方法是否需要修改，都应当对评估结果进行记录。

6.1.2 方法范围外的变更

超出方法范围的光谱方法变更应按照本程序进行验证，并且需要进行规范变更。这些更改包括扩展方法指定的范围、更改已注册的 TRS 方法之外的数据采集参数或更改规格限制。

6.1.3 平行测试

已提交监管批准的 TRS 方法在提交审查期间可以进行平行测试（利用 TRS 检测样品，然后通过参考方法对相同样品进行产品放行测试）。

6.1.4 定期对参考方法和 TRS 的数据进行对比

应根据用于分析目标性能分析的内部机制来监测所开发的 TRS 模型的性能。为验证参考方法与 TRS 方法之间持续保持一致，应至少每年利用 TRS（首先）和参考方法测试一次相同的样品。此类定期测试可针对无效样品（例如，工艺第一次运行的产品）或 QC 放行样品进行。

利用参考方法和 TRS 检测的样品应符合验证方案的准确度要求和验收标准。如果不满足该标准，应进行分析实验室事件调查，以了解根本原因并安排纠正和预防措施。

6.1.5 处理不符合规格结果和不符合趋势的结果

如果出现 TRS 不符合标准和不符合趋势的结果，则应当启动标准化程序调查根本原因。如果发现非典型结果是由先前未知的模型输入引起的，那么该结果应触发模型维护和重新验证周期，以纳入此次结果并更新 TRS 模型。

这一整体流程汇总于图 30 的流程图中。

6.1.6 仪器大修

在仪器大修之后，应对至少一个批次进行平行测试来重新评估 TRS 方法。如果维修后的光谱通过了光谱检查并且结果满足精密度、准确度和回收率可接受标准，则无需更新光谱方法。否则，应利用维修后制得的样品光谱对方法进行更新。无论光谱方法是否需要更新，都应当对评估结果进行记录。仪器维修属于方法范围内的更改。

6.1.7 仪器之间的方法转换

如果现场有多台 TRS 仪器，则应当使用两种仪器开发方法，以确保在开发的 TRS 模型中包含这种变量。

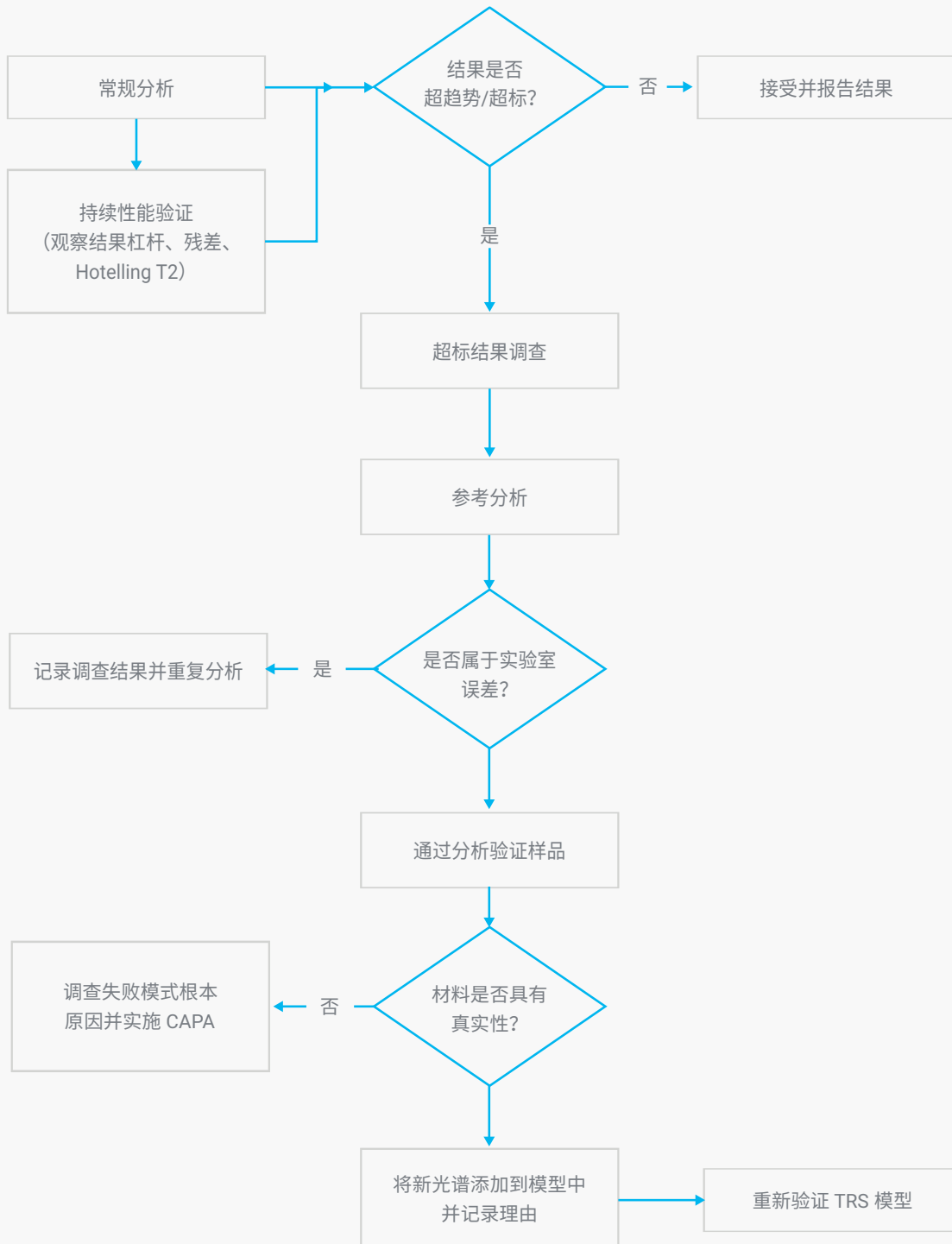


图 30. 定期的参考比较流程

7. 方法提交

在撰写本文之际（2018 年），欧洲药品管理局 (EMA) 或美国食品药品监督管理局 (FDA) 尚未发布有关拉曼光谱的指南。这对于采用拉曼光谱技术的用户来说是一种挑战，因为主管当局 (CAs) 没有确定的“路线图”可以遵循。缺乏具体的指南也可能是监管评估人员面临的挑战。由于缺乏先前的经验，因此监管机构会回归到审查方法是否具有合理的科学原理，例如申请人必须证明技术的稳定性和验证方法的严谨性。

幸运的是，有关制药行业中使用近红外光谱 (NIRS) 的指南以及针对新提交的方法和变更的数据要求 (EMA/CHMP/CVMP/QWP/17760/2009 第 2 版，2012 年 1 月) 于 2014 年 8 月生效。[14,16]

由于 NIR 和拉曼光谱技术在方法开发和化学计量学方法方面具有相似性，因此 CAs 建议可以参考该指南，并将其应用于拉曼光谱的引入。

还有一些可用的药典指南，为拉曼光谱的分析考虑因素提供指导：

- 欧洲药典 2.2.48 [17]
- 美国药典 <1120> 拉曼光谱学 [18]
- 美国药典 <1039> 化学计量学 [9]
- ASTM E1840-96(2014) [19]

本节重点介绍欧洲流程；但是，如第 7.1 节所述，其他监管机构也有类似的流程和指南。参见第 10 节的参考文献以获取其他指南文件。

7.1 方法提交过程是怎样的？

将创新技术应用于药物分析似乎是一项艰巨的任务，有许多感知的障碍，真实的和想象的，随时可能阻碍新技术的推出。也就是说，我们希望通过本指南证明，像 CAs 提交透射拉曼光谱方法与提交任何其他新的分析化学方法没有太大区别。我们很好地理解需要满足的要求，并随时提供帮助，以支持您提供更好的方法来快速测试您的样品。

问题陈述：

- 我希望从使用标准 HPLC 方法转变为使用透射拉曼光谱方法
- 我应该提交哪种变更类型？
- 监管机构需要哪些文档？

第一步始终应当是尽可能早地与监管机构或国家 CAs 接洽，让他们参与到这一过程。

对于欧洲地区的更新，有必要向相关主管部门提交变更。

变更是指向监管机构提交注册信息变更的程序。

在欧盟，第 1234/2008 号法规规定了销售许可（许可证）变更的程序，并对变更分类进行了详细说明：

- IA 类：细微变更：对产品的质量、安全性和有效性影响很小。执行并通知所做的更改
- IAIN 类：细微变更，必须在实施后 2 周内通知所做的更改
- IB 类：细微变更，必须在实施前将更改通知主管部门
- II 类：重大变更，可能会影响产品的质量、安全性和有效性，必须在实施更改之前获得 CA 批准

更改的正确分类对申请人进行首次评估至关重要。

在上述给出的从 HPLC 改为拉曼光谱的例子中，必须评估对产品质量、安全性和有效性产生的影响，因此这种改变为 II 类变更。但是，建议在提交变更之前与各个国家或地区的主管部门讨论一下变更分类。IB 类和 II 类先前在欧洲已用于透射拉曼光谱的提交。

就 II 类变更而言，根据变更分类指南，不存在需要满足的确定的文档或条件。但是，其要求与 IB 类变更 (B.II.d.2 d) 中列出的改变成品测试程序的要求类似：

档案相关部分的修订，包括分析方法的描述、验证数据的汇总、修订的杂质标准（如果适用）。

比较验证结果，或表明当前检测方法与拟定检测方法等效的经证明的比较分析结果。此要求不适用于新的检测程序。

除上述要求以外，还应在准备提交文件之前进行风险评估，以评估可能对提供有效结果的程序的性能产生不利影响的风险。提交的文件还必须包括更新后的专家报告，在本例中，必须提供更新后的 QOS。

在美国，虽然更改的名称不同，但是流程和文档要求非常类似：

- PAS — 需事先批准的补充申请，重大更改
- CBe0 — 更改在第 0 天生效，轻微更改
- CBe30 — 更改在第 30 天生效，轻微更改
- 年报，轻微更改

将 HPLC 更换为拉曼光谱应作为 PAS，即需事先批准的补充申请（重大更改）进行提交。

7.2 方法提交文档是什么样的？

提交文档将包括在具体档案部分中作为变更的一部分而更新的所有文件

模块 1

- 1.4.1 质量

模块 2

- 2.3 质量总体概述
 - 2.3.S 原料药（如果变更适用于原料药检测）
 - 2.3.P 药品（如果变更适用于药品检测）

模块 3 原料药（如果变更适用于原料药检测）

- 3.2.S.4. 原料药控制
 - 3.2.S.4.1 — 质量标准
 - 3.2.S.4.2 — 分析程序
 - 3.2.S.4.3 — 分析程序验证
- 模块 3 药品（如果变更适用于药品检测）
 - 3.2.P.2 药物开发
 - 3.2.P.5 药品控制
 - 3.2.P.5.1 — 质量标准
 - 3.2.P.5.2 — 分析程序
 - 3.2.P.5.3 — 分析程序验证

7.3 注意事项

提交的每份文档的内容应准确无误。

为帮助用户完成首次提交，我们提供了重要文档的关键注意事项列表：

分析模型

- 应在方法中明确说明分析模型的适用范围
- 包含的所有详细信息必须针对考察的特定产品
- 应使用表格提供关键数据，例如，检测器激光类型和所用波长的描述、所用的软件及其背后的化学计量学原理、仪器校准、验证和常规测量、预处理、针对每个样品执行的扫描次数等
- 方法应清楚地描述每种应用仪器设置和样品前处理的所有差异，如批量分析，含量均一度
- 应清楚地描述拉曼光谱与参考方法数据的相关性，使数据如何进行匹配方面不会产生歧义
- 在常规分析中，应提供关于如何处理数据中异常值的描述和理由
- 应当明确指出，一旦拉曼方法被指定用于鉴定 (ID)、含量测定或含量均一度 (CU) 测试以对产品进行批次放行，那么在批次失败的情况下，如果没有对失败进行全面调查并确定失败原因，则不能用当前注册的方法来取代它

药物开发

- 应简要讨论开发问题
- 必须包括药品组成的详细信息
- 必须声明配方变体的全部详细信息
- 应列出原料药和辅料的配方范围
- 应声明批次间混合、批次组分和混合/批次代码

分析规范

- 该规范应明确规定常规使用哪种鉴定、含量测定和含量均一度测试来对产品进行批次放行，例如拉曼光谱或 HPLC
- 应明确规定用于批次放行的分析测试

分析模型验证

- 本节应充分描述如何针对各种参数进行验证以及每个参数接受/拒绝标准。应明确定义所用的术语

- 应充分解释验证中研究的所有变量和参数，例如参数的光谱采集及其优化、外部和内部验证、拉曼和参考方法配对数据、光谱质量测试、预测的标准误差 (SEP) 和接受/拒绝标准
- 应充分描述需要重新验证方法或更新谱库的情况

质量综合概述

- 应更新 QOS 并严格评估拉曼光谱方法或针对其预期用途的验证

一般而言，所有定义都应进行详细描述，所有术语都应该是读者熟悉易懂的。

建议至少每年使用拉曼和 HPLC 对同一样品进行定期比较分析。

8. 作者



Julia Griffen, 安捷伦科技公司应用科学家。Julia 于 2013 年获得英国巴斯大学有机合成博士学位, 其研究方向是可持续发展和药物生产。自 2013 年加入 Cobalt Light Systems (现为安捷伦) 以来, Julia 参与了许多成功的透射拉曼应用开发工作, 并协助进行售前可行性研究、提供高级客户培训和支持, 同时她也是 TRS100 产品支持和应用开发的专家。



Acorn Regulatory 公司由 Gemma Robinson 博士于 2002 年创办。Gemma 在与一些全球前沿的医疗保健公司合作方面拥有超过 20 年的经验。Acorn 法规认证团队中的每名成员均在行业高水平的药物生产部门拥有 15 年以上的工作经验。Acorn 旨在为全球各种规模的制药企业和医疗器械生产商提供帮助, 涉及的领域包括: 监管策略、产品注册、QMS、GDP/GMP、药物警戒和医疗器械服务以及临床试验。

<https://acornregulatory.com/>



Phil Doherty, Process Analytics, Ltd. Phil 是 Process Analytics 公司的首席顾问, 该公司位于爱尔兰, 专门为制药行业提供全面的过程分析解决方案和 QbD 服务。Phil 于 1991 年加入位于英国桑威治的辉瑞公司全球研发部门。他在技术开发组工作了 12 年, 主要负责开发用于 API 和固体生产过程分析的技术系统。Process Analytics 公司自 2012 年成立以来, 已成功为大型制药和化学公司提供多次专业支持。

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

Phil.Doherty@Process-Analytics.ie

+353 86 1780 631

9. 术语表

API	Active Pharmaceutical Ingredient	活性药物成分
ASTM	American Society for Testing and Materials	美国材料与试验协会
AV	Acceptance value	合格值
CA	Competent Authority	主管部门
CU	Content uniformity, aka. uniformity of content	含量均一度
DoE	Design of experiments	实验设计
EMA	European Medicines Agency	欧洲药品管理局
EP	European Pharmacopeia	欧洲药典
FDA	U.S. Food and Drug Administration	美国食品药品监督管理局
HPLC	High performance liquid chromatography	高效液相色谱
ICH	International Council for Harmonization	人用药品技术要求国际协调理事会
ID	Identification (usually of drug product)	定性分析 (通常针对药品)
L-HPC	Low-substituted hydroxypropyl cellulose	低取代羟丙基纤维素
MCC	Microcrystalline cellulose	微晶纤维素
NIR	Near infrared	近红外
NMT	Not more than	不超过
PAS	Prior Approval Supplement	事先批准的补充申请
QbD	Quality by design	设计质量
QE	Quantum efficiency	量子效率
QOS	Quality Overall Summary	综合质量总结
RAM	Rapid analytical method	快速分析方法
RMSE	Root mean square error	均方根误差
RSD	Relative standard deviation	相对标准偏差
SEP	Standard error of prediction	预测的标准误差
SNV	Standard normal variate	标准正态变量
TRS	Transmission Raman Spectroscopy	透射拉曼光谱
UPS	United States Pharmacopeia	美国药典
UV-Vis	Ultraviolet-visible spectroscopy	紫外-可见光谱

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

了解更多信息

www.agilent.com/chem/raman

查找安捷伦客户服务中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

DE44431.1117361111

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2022
2022年4月6日，中国出版
5994-1091ZH-CN

