

生物制品分析方法的生命周期管理

李怡君,何 伍,魏开坤

(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要] 分析质量源于设计(analytical quality by design, AQBd)的理念指引着制药企业运用科学知识和质量风险管理进行系统的分析方法开发和维护。生物制品的质量控制部分是其药学研究和评价的关键内容,是保证药物安全有效、持续稳定的重要手段。质量控制采用的分析方法关系着质量控制体系是否可靠。分析方法的生命周期管理包括分析方法的开发、验证、转移、变更、持续改进等多个阶段。本文将根据生物制品的质量控制特点和药学审评经验,介绍分析方法生命周期管理的概念、应用以及审评考虑。

[关键词] 分析方法开发;方法学验证;质量控制;生命周期管理

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)02-0181-08

Lifecycle management of analytical procedures of biological products

LI Yi-jun, HE Wu, WEI Kai-kun

(Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China)

[Abstract] The concept of analytical quality by design (AQBd) guides pharmaceutical industries in the development and maintenance of systematic analytical procedures using scientific knowledge and quality risk management approach. The quality control of biological products is the critical content of the pharmaceutical research and evaluation, and is important to ensure the safety, effectiveness and stability of products. The analytical procedures used for quality control contribute to the quality control system. Lifecycle management of analytical procedures includes analytical procedure development, validation, transfer, change and continual improvement. This article introduced the concept and application of lifecycle management of analytical procedures and regulatory considerations according to the quality control characteristics of biologics and the experience of drug evaluation.

[Key words] analytical procedure development; analytical validation; quality control; lifecycle management

生物制品具有分子量大、结构复杂的特点,其结构容易受外部环境的影响发生变化,继而影响其安全性和有效性。生物制品的质量控制策略需要结合其分子结构特征、质量属性和生产工艺来设定。质量控制采用的分析方法可能影响结果的可靠性和准确性。分析方法的生命周期管理可以保证在产品的整个生命周期内执行耐用、准确和性能一致的分析

方法,从而有效控制产品质量,是贯穿药物临床前研究、临床试验期间研究、工艺验证阶段、商业化生产的重要内容。

近年来,监管机构和工业界不断提高对药品分析方法生命周期管理的认识和应用^[1]。质量源于设计(quality by design, QbD)的药物研发理念指引着生产企业采用系统的、基于充分的科学知识和质量风险管理的研发方法,充分理解产品工艺控制和质量属性,从而获得质量符合预期的产品^[2-3]。分析质量源于设计(analytical quality by design, AQBd)是通过将 QbD 的理念、方法和工具应用于分析方法

[作者简介] 李怡君,女,硕士,助理研究员,主要从事生物制品药学评价工作。联系电话:(010)85242998,E-mail:liyijun_1993@163.com。

[通讯作者] 魏开坤,男,博士,主要从事生物制品药学评价工作。联系电话:(010)85243021,E-mail:weikk@cde.org.cn。

的开发和维护,从而获得满足预期性能要求的质量可靠的分析方法。ICH Q14“分析方法开发(草案)”当前正在全球范围内征求意见^[4]。该草案描述了运用科学和风险管理进行分析方法的开发和维护,提出了运用基础方式或增强方式进行分析方法的开发,并将分析目标概况整合到分析方法的生命周期管理中。2021年11月1日《美国药典-国家处方集》(USP-NF)新收录通则<1220>“分析方法生命周期”,并已于2022年5月1日生效。USP 通则<1220>“分析方法生命周期”强调了在分析方法的

开发、控制、建立和使用过程中应用科学的手段和质量风险管理的重要性。ICH Q14“分析方法开发(草案)”和 USP 通则<1220>“分析方法生命周期”2个指导原则的发布为我国监管机构和工业界提供了参考。

分析方法的生命周期管理包括分析方法的开发、确认、验证、转移、变更、持续性能监测等多个阶段(见图1),本文将参考国内外指导原则,结合生物制品的质量控制特点和审评经验,介绍分析方法生命周期管理的概念、应用以及审评考虑。

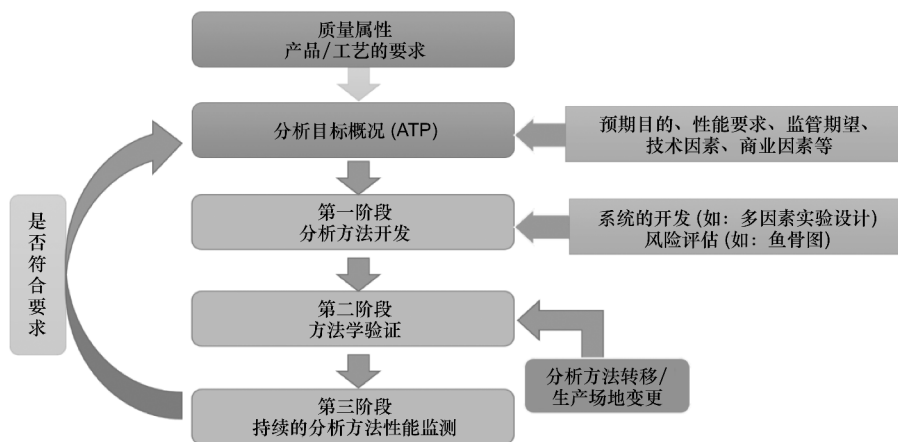


图1 分析方法的生命周期

1 分析方法生命周期的概念和一般原则

1.1 分析目标概况(analytical target profile, ATP)

ATP是根据分析方法的预期用途所提出的对分析检测方法的性能要求^[5]。在药物的开发过程中,随着对工艺和质量的理解逐渐深入,药物的关键质

量属性(critical quality attributes, CQA)逐渐暴露。对于同一质量属性的检测,可能有多种满足性能要求的可用分析技术。分析目标概况包括了对分析方法的性能(如精密度、准确度、定量限等)的基本要求,其具体考虑因素类型可以参考表1。

表1 基于分析目标概况的分析方法开发的考虑因素

因素类型	具体内容
分析方法的预期目的	放行检测、过程中控制或稳定性研究;用于原液、制剂或中间体的考察;定量、半定量或定性考察;理化分析方法或生物学测定方法
与关键质量属性的关联性	分析方法检测的质量属性是否可能影响药物的安全性、有效性、体内药理学/药效学(PK/PD)
对分析方法性能的基本要求	准确度、精密度、专属性、灵敏度、耐用性、可报告范围等
技术因素	检测仪器的可获得性、人员特殊培训、环境影响等
商业驱动因素	分析成本、分析时长、方法复杂性、检测通量等

基于ATP的分析方法开发理念是一种前瞻性的基于生命周期管理的思路。然而,当前绝大多数产品依然采用传统的分析方法开发手段。传统的开发方式尚未纳入ATP要素,研究者在研发早期需要确定质量属性与药物安全性和有效性的相关性,

在此基础上结合生产工艺对质量属性的影响、贮藏过程中的降解情况、分析方法的可及性和监管机构的要求确定采用何种控制策略^[6]。

1.2 分析方法开发

分析方法的开发通常基于既往经验或平台分析

方法,结合可及的技术手段和监管机构的要求。分析方法的选择既要考虑经济实用、易于操作,又要反映新技术的应用和发展。例如:对于单克隆抗体、胰岛素等质量属性和降解途径相对明确的药物,研究者可充分借鉴同类产品的既往开发经验和平台技术进行分析方法开发;对于按照生物类似药开发的药物,研究者首先考虑采用与参照药尽可能一致的分析方法对候选药和参照药的质量属性进行全面评估。ICH Q14 将分析方法的开发方式分为基础方式和增强方式,下面将简单介绍 2 种开发方式的具体内容。

1.2.1 基础方式 传统的分析方法开发方式主要依靠对药物和分析方法的理解,研究人员的知识和直觉以及可用的技术手段。研究者首先评估需要分析的质量属性,然后选择合适的分析方法技术和检测仪器,进行初步的方法性能评估,确定分析方法的参数设定。基础的分析方法开发通常采用单因素实验来考察不同因素对分析方法的影响,无法估计各因素之间的相互作用,无法预测参数变化的潜在影响。按照基础方式开发的分析方法一旦成功验证和实施,在产品的生命周期中应该严格按照方法的标准操作规程(SOP)操作,以保证方法能持续适合其既定用途^[6]。当分析方法发生实质变更(如实验参数、设备、试剂的变更等)时,需对分析方法的关键性能指标进行再验证。当发生可能影响目标分析物组成的生产工艺变更(如生产场地变更、生产细胞变更、培养基变更),需评估分析方法是否依然适用。

1.2.2 增强方式 增强方式的开发纳入了分析目标概况和质量风险管理的概念。基于对生产工艺和药物特性的理解,充分评估分析方法参数变化对分析方法性能的影响,采用多因素实验设计探索分析参数之间的相互作用,制定合理的分析方法控制策略。通过风险评估可识别出影响分析方法可靠性的方法参数和可能导致分析方法变异性的潜在风险,在方法开发中集中关注这些参数并确定风险控制策略。此外,增强方式还可用于制定生命周期变更管理计划。增强方式可以通过平衡风险和健全控制策略为制药企业带来获益,例如:降低开发失败的风险,减少对方法学验证的依赖,以便于灵活监管^[2-3]。

无论是采用基础方式还是增强方式进行分析方法的开发,都需要制药企业具备丰富的知识经验积

累和一定的风险识别能力,且都需要在后续对分析方法的性能进行全面的验证。虽然目前绝大多数的商业化产品仍采用基础方式进行分析方法的开发,但制药行业对增强方式的理解和运用逐渐成熟。Borman 等^[7]分享了一个使用 ATP 在分子排阻色谱法(SEC-HPLC)和沉降速度-分析超速离心(SV-AUC)之间选择生物制品的高分子蛋白/聚集体分析技术并开发分析方法的案例。SEC-HPLC 和 SV-AUC 均可用于检测生物制品中的聚集体。在分析方法的初始选择中,列出了 2 种技术的优缺点对比以及用于扩展表征时的考虑。经分析对比,SEC-HPLC 提供了一种稳健、快速、定量的方法来检测聚集体,更适合用于过程控制和产品放行检测。随着工艺和质量开发的深入,申请人需要分离鉴定聚集体的聚集形式并评估其对安全性和有效性的潜在影响。因此重新对 ATP 进行修订以选择与 SEC-HPLC 互补且正交的 SV-AUC 分析方法,该分析方法可通过测量蛋白质颗粒在离心力作用下的沉降速率进行高阶聚体种类的定量分析。Andrade 等^[8]在一个通过质量风险管理开发宿主 DNA 残留替代分析方法案例中,使用危险分析和关键控制点工具(the hazard analysis and critical control points, HACCP)评估了 3 种宿主 DNA 残留分析方法的性能失效风险,最终确定 qPCR 方法在 3 种宿主 DNA 残留分析方法中性能失效的风险最低。Verch 等^[2]以蛋白质浓度的分析方法为例,通过 ATP 示例、风险评估(鱼骨图)、DOE 分析来论述 AQBd 和生命周期管理。

1.3 方法学验证

分析方法开发和确认研究完成后,需要开展全面的方法学验证工作,以证明该分析方法适用于预期目的。对于采用《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则收录的常规检查项目,应进行适用性研究;若对药典方法经过修订或替代,需进行对比研究确认其合理性^[6,9]。

方法学验证中通常考虑的验证指标包括专属性、准确度、精密度、线性、范围、定量限、耐用性等,详见表 2。方法学验证可以参照 ICH Q2(R2):“分析方法验证”^[10]、《生物制品质量控制分析方法验证技术审评一般原则》、《中华人民共和国药典》2020 年版通则 9101《分析方法验证指导原则》以及通则 9401《生物制品生物活性/效价测定方法验证指导原则》、USP 通则<1225>“分析方法验证”等国内外指导原则来规范开展。

表2 分析方法检测项目和验证指标

参数	鉴别 实验	杂质检查		生物 活性	含量 测定
		定量	限度		
准确度	-	+	-	+	+
精密密度					
重复性	-	+	-	+	+
中间精密密度	-	+	-	+	+
耐用性	+	+	+	+	+
线性	-	+	-	+	+
范围	-	+	-	+	+
专属性	+	+	+	+	+
检测限	-	-	+	-	-
定量限	-	+	-	-	-

- : 不需测定的参数; + : 需测定的参数

对分析方法验证研究的要求可能因检测项目的质量属性而异。对专属性的考察应充分考虑缓冲液、流动相、稀释溶液、潜在降解产物的干扰。对于

纯度测定和杂质定量检测等指标,建议在测试样品中加入已知干扰物质(如强制降解样品、储存时长超出货架期的样品或者经鉴定的富集杂质组分)进行与主峰的分离度考察。对于精密度和准确度的要求通常基于行业通常的验收标准、待检测物浓度、分析方法的变异性^[11]。待检测物的浓度越高,对精密度和准确度的要求越高。同一分析方法对主峰纯度和杂质的分析性能要求也可能存在差异,表3列举了某抗体类药物的部分分析方法验证参数要求。对耐用性的考察应充分考虑分析方法的潜在影响因素,以离子交换色谱法(IEC-HPLC)为例,参数变量可包括不同供应商的色谱系统、不同色谱柱批次、不同分析员、不同材料的进样瓶对样品的影响、贮存在自动进样器腔室中的样品稳定性、样品在室温下的稳定性、柱温、流速、流动相的pH值、流动相的盐浓度、流动相的稳定性等。

表3 某抗体类药物的部分方法学验证分析性能参数要求

验证指标	线性	精密密度	准确度(回收率)
还原/非还原 CE-SDS	$R^2 \geq 0.98$	重复性 RSD 值 $\leq 1.0\%$ 中间精密密度 RSD 值 $\leq 2.0\%$	98% ~ 102%
纯度(SEC-HPLC)	单体 $R^2 \geq 0.99$ 聚体峰 $R^2 \geq 0.95$	单体 RSD 值 $\leq 2.0\%$ 聚体峰 RSD 值 $\leq 20.0\%$	98% ~ 102%
电荷异质性(阳离子交换色谱法)	主峰、酸性峰和碱性峰 $R^2 > 0.99$	主峰 RSD 值 $\leq 2.0\%$ 酸碱峰 RSD 值 $\leq 20.0\%$	主峰 98.0% ~ 102.0% 酸碱峰 80.0% ~ 120.0%
HCD((qPCR 法)	$R^2 \geq 0.98$	RSD $\leq 30.0\%$	70.0% ~ 130.0%
HCP(Elisa 法)	$R^2 \geq 0.99$	RSD $\leq 20.0\%$	80.0% ~ 120.0%
蛋白 A 残留量测定(Elisa 法)	$R^2 \geq 0.98$	RSD $\leq 20.0\%$	80.0% ~ 120.0%
蛋白质含量测定(UV 法)	$R^2 \geq 0.98$	重复性 RSD $\leq 2.0\%$ 中间精密密度 RSD $\leq 3.0\%$	90.0% ~ 110.0%
生物学活性检测(细胞法)	$R^2 \geq 0.95$	RSD $\leq 25\%$	80.0% ~ 120.0%

1.4 分析方法转移

分析方法转移是指将分析方法从一个实验室转移到另一个实验室。在产品的生命周期中,存在着工艺开发、规模放大、生产场地变更、上市申请、批准后商业化生产等阶段,分析方法转移可以在产品生命周期的不同阶段进行。分析方法转移研究的目的是证明接收实验室在采用转出实验室建立并经过验证的非法定分析方法检测样品时,该实验室有能力成功操作该方法,检测结果与转出实验室保持一致。分析方法的转移研究应该在生产场地变更的可比性研究前完成,从而为可比性研究提供支持。

研究者在转移阶段应结合实验设备、试剂来源、

人员培训等变量进行全面的风险评估,从而准确地预测、理解和管理分析方法转移中的变异。转出方需要将从长期的产品检测中积累的知识和经验传授给接收方,同时需要安排经验丰富的培训师对接收方人员进行培训。

分析方法转移的策略有比对实验、2个或多个实验室间共同验证、再验证等不同类型^[12]。研究者需要基于接收方的经验和知识水平、样品的复杂程度和特殊性以及对过程的风险评估选择合适的转移策略。

比对实验是指转出方和接收方同时对足够数量的代表性样品进行分析。对于具有稳定性指示的分

析方法,待测样品通常还包含强制降解样品。研究者可采用统计学模型(如双单侧 t 检验)来评价 2 个场地间的等效性或可比性,还可绘制 2 个检验场所分析结果的散点图来直观反映数据的均值和离散度。对于残留蛋白 A 等工艺相关杂质分析方法,如果待测样品的历史报告结果低于定量限,可以对加标杂质的样品进行分析。比对实验是最常用的方法,一般适用于经过验证的分析方法。

共同验证是指 2 个实验室或多个实验室间的共同验证。生产企业可以让接收方参与多个实验室的共同验证工作,将接收方作为验收小组的成员,因此需要重现性的评估并获得相关数据。要确保 2 个实验室尽量使用相同或等同的检测设备(如分析仪器、色谱柱等)。该方法可适用于没有完成验证的方法,接收方实验室的验证数据将包含在方法学验证报告中作为方法转移的证据。

再验证或部分验证是指接收实验室重复部分或者全部的验证实验。再验证的参数需要根据所转移方法的特点和复杂程度来确定,如纯度检测的精密度和准确度、杂质检测的定量限等应纳入再验证内容。

分析方法转移时应关注 2 个实验室样品质量的一致性,考虑贮存和运输环节对样品质量的影响。生物制品对高温、冻融、光照等外部条件敏感,保存、运输条件不当会影响药品质量并可能导致方法转移验证的失败。

1.5 持续的分析方法性能监测

在完成了分析方法的开发和验证后,需要在日常运行中对其进行持续监测和定期评估,以促进分析方法的改进。方法性能的持续监测阶段可以提供丰富可靠的数据,研究者可通过建立统计模型和图表来评估与分析方法性能相关的数据是否符合预期,是否满足分析目标概况的要求^[13]。分析方法的日常监测内容包含对常规过程中控制的持续监测、对批放行数据的趋势记录、每年选取代表性样品的稳定性考察、系统适用性参数的变化趋势等^[11]。分析方法的持续监测能够为方法性能的漂移或变化提供早期预警。如果数据分析表明某一分析方法没有按照预期的方式运行,研究者应立刻采取行动,从人员、仪器、试剂、样品、环境等多方面评估产生变异的原因,确定是否需要采取纠正和预防措施。

2 生物制品的质量控制和常用分析方法

生物制品的结构鉴定和质量研究通常包括一级结构、高级结构、理化分析、纯度和杂质分析、生物学活性分析等。用于药物特性鉴定的分析方法通常不需要进行全面的方法学验证,但需要证明该分析方法适用于预期用途,具有一定的重复性和可靠性。用于放行检测的常规控制项目是生物制品分析方法开发和验证的重点,这类项目包括鉴别实验、含量测定、纯度测定、杂质检查及生物学活性测定。表 4 以抗体类药物为例总结了不同检测项目的常用分析方法。

表 4 抗体类药物的质量控制项目和常用分析方法

检测项目	指标	常用方法
鉴别实验		肽图、毛细管等电聚焦电泳(iCIEF)、结合活性/细胞活性
纯度	分子大小异构体	SEC-HPLC、还原/非还原毛细管凝胶电泳(CE-SDS)
	电荷异构体	IEC-HPLC、毛细管等电聚焦电泳(iCIEF)、阳离子交换色谱法(CEX-HPLC)
工艺相关杂质	宿主残留蛋白	Elisa 法
	蛋白 A 残留	Elisa 法
	宿主残留 DNA	q-PCR 法
蛋白质含量		Lowry 法、BCA 法、分光光度法、凯氏定氮法、HPLC 法
生物学活性	抗原结合活性	Elisa 法
	受体结合活性	流式细胞法、表面等离子共振(SPR)
	生物学活性	细胞增殖抑制实验、杀伤活性中和实验、荧光素酶报告基因法、Fc 效应功能(ADCC, CDC)

2.1 鉴别实验

鉴别实验应具有高度的特异性,根据产品特性,选择理化性质、生物活性中的 1 种或 1 种以上检测方法进行鉴别实验。

2.2 纯度和异构体

采用正交的方式来评估产品的纯度和产品相关杂质有利于全面、互补地反映纯度状态,应用强制降解样品可以更显著地指示分析方法的分离效果和反

映产品的变化特点。研究者需结合特定产品的结构特点关注潜在的产品相关杂质,例如:聚乙二醇修饰蛋白的杂质分析应包括修饰蛋白聚合体、聚乙二醇自身聚合物、原型蛋白、游离聚乙二醇;抗体偶联药物的纯度和杂质分析应包括载药分布、偶联位点和相关杂质(如未修饰裸抗)^[14];双特异性抗体的纯度和杂质分析应包括游离轻重链、同源二聚体、半分子和其他错配杂质。随着分离科学等学科的发展和科技进步,当出现更灵敏、更准确的分析方法时,监管方往往会提出要求对现有方法进行更新、升级和替换。

2.3 工艺相关杂质

质量控制中的工艺相关杂质与表达体系、生产用原材料、发酵和纯化工艺有关^[15]。研究者需要结合工艺相关杂质的清除研究、人体暴露量和安全性阈值进行风险评估,对于确定可以经由纯化工艺去除的风险较小的残留物,可不纳入质量标准中。根据《中华人民共和国药典》对该类产品的一般技术要求,宿主残留蛋白、蛋白 A 残留、宿主残留 DNA、抗生素和细菌内毒素通常需要在原液的放行检测中予以控制。对于宿主残留蛋白和蛋白 A 残留的检测,当企业选择相同表达体系的商业化通用型试剂盒时,需要进一步对其适用性进行确认,监管方往往会要求企业在上市时开发出产品特异性的检测方法。

2.4 蛋白质含量

蛋白质含量的检测有多种方法,每种方法都有其特点和局限性,研究者应根据不同情况选择恰当的分析方法。紫外分光光度法不需要复杂试剂,操作简单,常被用在放行检测中根据产品的消光系数测量蛋白质含量。凯氏定氮法相对准确,但操作复杂,不适用于放行检验,可以用于对蛋白质含量的溯源分析。研究者可以用多种分析方法对蛋白质含量

进行分析,从而准确定量。

2.5 生物学活性

生物学活性是生物大分子的关键质量属性。相对于理化分析方法,生物学活性分析方法的开发和应用更加复杂和耗时。临床试验前的研发阶段可通过测定目的蛋白与靶点的结合能力初步评价活性。临床试验期间可根据药物的体内作用机制进一步开发体外细胞活性分析方法。基于实验动物保护和伦理考量,应尽可能采用效果相同或更优的体外生物学方法替代动物实验。随着工艺和质量的稳定,有时产品在上市后累积了足够的经验和数据,又可以用理化分析方法代替动物或细胞来评价生物制品的活性,例如:胰岛素类产品使用 HPLC 定量法确定活性单位。

2.6 关键辅料含量

稳定剂、抑菌剂等重要辅料(如聚山梨酯 80、聚山梨酯 20、间甲酚、苯酚)的含量应纳入放行检测质量标准中。必要时研究者需要评估辅料降解物对制剂的影响,例如:聚山梨酯的降解物可能与处方中的抗体蛋白发生作用形成微粒。

生物制品的其他常规检测项目还包括外观、可见异物、不溶性微粒、pH 值、渗透压摩尔浓度、装量/可抽取体积、安全性检查(细菌内毒素、无菌、异常毒性)等,这些项目通常采用药典方法。

3 药学审评考虑

3.1 不同申报阶段的要求

分析方法的研究应在药物的申报历程中逐渐完善,以适应生命周期不同阶段的质量控制要求。药物处于临床试验申请、临床试验期间、上市申请、上市后变更等不同阶段时,对分析方法开发和验证的要求也有不同,详见图 2。

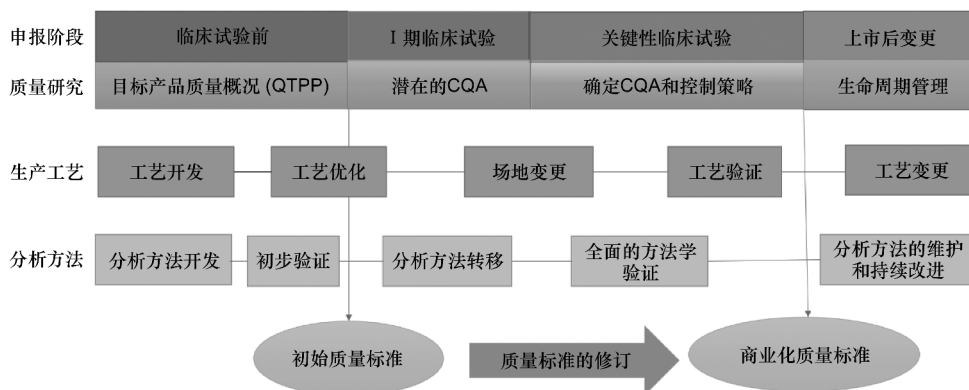


图 2 产品质量、工艺和分析方法的生命周期管理

3.1.1 临床试验申请阶段 一般来说,分析方法的开发通常在临床试验前完成,并在临床试验期间进一步优化。对于按照生物制品 I 类新药开发的药物,基于保护受试者安全的考量,在申报临床试验前应对与安全性相关的分析方法进行初步验证,例如:宿主残留蛋白、宿主残留 DNA 等工艺相关杂质的分析方法。

对于按照生物类似药开发的药物,前期的药学相似性研究是按照生物类似药开发和评价的基础,因此,在临床试验前就应完成全面的方法学验证,采用经验证的分析方法开展候选药和参照药之间全面的质量比对研究,在临床试验申报资料中一般需要提供全面的方法学验证信息,以支持药学相似性评价。

3.1.2 临床试验期间 全面系统的方法学验证研究通常在关键性临床试验期间完成,至少需要在工艺性能验证(process performance qualification, PPQ)之前完成,以支持商业化规模的工艺验证、临床试验期间变更的可比性研究以及上市申请所拟定的质量标准。如果在临床试验期间发生分析方法的转移或变更,应规范完成变更前后的桥接研究。

3.1.3 上市申请阶段 研究者应在上市申报资料中提供完整的分析方法和方法学验证报告,对临床试验期间方法学的优化进行总结,阐明所开发的分析方法的科学性、合理性和可行性,以充分表明分析方法符合检测目的和要求。研究者应在完善分析方法的基础上,根据积累的工艺能力和批放行数据、非临床和临床研究结果、稳定性研究数据、分析方法的变异性等内容,进一步修订完善质量标准,提供新药临床试验(IND)申报质量标准、临床试验阶段质量标准 and 拟上市质量标准的对比和修订依据。

3.1.4 上市后变更 对于产品的生产场地变更、生产规模放大、增加新剂型、生产工艺重大变更等可能影响产品质量的情况,需要对分析方法的适用性进行重新评估。同时,随着分析检测技术手段的升级,越来越多自动化程度高、重现性好、灵敏度高的分析方法用于替代传统分析方法,研究者可以结合技术的迭代更新对分析方法进行持续改进。如果研究者提出新的分析方法,应进行全面的风险评估,根据变更的潜在风险确立变更风险等级、变更研究策略和新方法的控制策略。研究者可从以下方面开展研究:提供变更分析方法的理由和依据;对新方法进行全面的方法学验证;采用变更前后的分析方法对代

表性样品进行比对分析,从而确定变更前后分析方法的等效性;根据比对研究结果评估原有质量标准是否适用于更新的分析方法。

3.2 通用技术文档(CTD)格式申报资料要求

分析方法的研究内容作为原液和制剂质量研究的一部分,应该按照《ICH M4:人用药品注册申请通用技术文档(CTD)》的相应章节要求进行提交,可参考国家药品监督管理局发布的《生物制品注册分类及申报资料要求》。分析方法开发的相关资料通常无需在 CTD 中提交,一旦确定分析方法后,需要在模块 3 的 3.2.S.4.2 和 3.2.P.4.2 分析方法部分对分析方法进行详细描述。分析方法验证相关的所有数据通常是在模块 3 的 3.2.S.4.3 和 3.2.P.4.3 方法学验证部分提供。如果发生分析方法的转移,那么分析方法的转移研究报告也应在这一部分提供。申报资料应提供所有用于原液和制剂放行检验的非药典方法的方法学验证资料。方法学验证资料纳入的验证参数应尽可能的全面,拟定的验收标准应符合分析方法的性能要求。建议以列表的形式对分析方法验证的结果予以总结(包括分析方法、验证参数、可接受标准、结果、评估),然后在子单元中详细描述研究内容和研究结果。

3.3 申报资料常见问题

当前,许多企业对分析方法的研究不系统,申报资料不规范,对方法学验证的重要性认识不足。下面汇总了药学技术审评和中国食品药品检定研究院复核意见中的申报资料常见问题。

分析方法方面,存在的问题主要有:① 对于自建方法,存在方法落后、不具有专属性或不满足分析要求的问题。例如:某公司采用强阳离子色谱柱进行电荷异构体的分析,检测到的纯度值均为 100%,实际上根本无法有效区分不同的电荷异质性组分。再如:当前绝大多数企业已采用 CE-SDS 控制纯度和分子大小异构体,但仍有公司采用 SDS-PAGE 这一落后方法,导致无法很好地反映产品的纯度状态和降解趋势。② 对分析方法的系统适用性要求不全面,色谱条件缺少,判定标准不足。例如:间甲酚含量的系统适用性研究未考察与主峰的分离度;宿主残留蛋白的系统适用性缺少加标回收率要求;含量测定分析方法未明确色谱柱温度;鉴别检测项目缺少一致性判定标准;未对宿主残留蛋白检测项目中 Cygnus 公司试剂盒的专属性进行验证。③ 检测项目缺项或质量标准的拟定不合理。例如:制剂质

量标准中缺少异常毒性和关键辅料含量;预充式注射剂制剂质量标准中缺少剂量准确度;肽图检测项目未对 CDR 区进行控制;电荷异质性的酸碱峰未拟定限度仅报告检测值。④ 对药典方法或自建方法的描述不规范,例如:无菌分析方法未明确冲洗液的种类、冲洗量及阳性对照菌的选择;引用药典通则未列出版本号,文字描述和格式与药典不一致;涉及积分的检测项目未附上特征图谱;冻干制剂的成品检定中缺少复溶方案等。

方法学验证方面,存在的问题有:① 验证参数不全面、缺少必要项目。例如:未对产品相关杂质/有关物质峰的精密度、准确度等参数进行验证;缺少对分析方法耐用性的考察,或仅考察样品放置的稳定性,未充分考虑分析方法的潜在影响因素。② 可接受标准的拟定不合理。例如:通常情况下 HPLC 分析方法用于纯度分析时要求 RSD < 2%,回收率 98% ~ 102%,部分企业拟定的可接受范围过宽。③ 定量限的设置不合理。例如:将宿主残留蛋白和蛋白 A 残留分析方法的定量限设置在标准曲线的中下段,这意味着中下段的标准曲线点没有经过严谨的方法学验证,将其设在标准曲线上并不合适,导致与范围的定义相冲突^[16]。

分析方法转移方面,常见的问题是缺少分析方法转移的支持性研究。例如:发生分析方法的转移但未开展比对研究;比对实验显示转移方和接收方对同样品的检测数据存在差异,但未对差异进行分析。

4 总结和展望

生物制品的分析方法是其质量研究和药学评价的关键内容。研究者应结合不同阶段的申报资料要求规范进行分析方法开发和管理,从而有效控制产品质量。分析方法的生命周期管理将分析方法的开发、验证、转移、变更和日常监测视为一个连续的、相互关联的过程,知识经验和风险管理贯穿了这个过程的始终^[1,11]。当前制药行业对分析方法全生命周期管理的概念、工具和方法的理解和运用逐渐成熟^[2-3,11-12,17],但相关的商业化案例和监管经验仍非常有限。ICH Q14“分析方法开发”这一技术指南在未来的落地实施将有利于在全球范围内协调分析方法的管理,为监管机构和工业界提供科学支持,为

患者用药提供安全和质量保障。

[参 考 文 献]

- [1] PARR MK, SCHMIDT AH. Life cycle management of analytical methods[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 147: 506 - 517.
- [2] VERCH T, CAMPA C, CHÉRY CC, et al. Analytical quality by design, life cycle management, and method control[J]. *Aaps J*, 2022, 24(1): 34.
- [3] DISPAS A, AVOHOU HT, LEBRUN P, et al. 'Quality by Design' approach for the analysis of impurities in pharmaceutical drug products and drug substances[J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2018, 101: 24 - 33.
- [4] ICH. Analytical procedure development (draft version) [EB/OL]. (2022 - 03 - 24) (2022 - 10 - 14). https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q14_Document_Step2_Guideline_2022_0324.pdf.
- [5] JACKSON P, BORMAN P, CAMPA C, et al. Using the analytical target profile to drive the analytical method lifecycle[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(4): 2577 - 2585.
- [6] 李敏, 常卫红. 生物制品质量标准研究与建立一般原则的探讨[J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(16): 1887 - 1893.
- [7] BORMAN P, CAMPA C, DELPIERRE G, et al. Selection of analytical technology and development of analytical procedures using the analytical target profile[J]. *Anal Chem*, 2022, 94(2): 559 - 570.
- [8] ANDRADE CL, HERRERA MAO, LEMES EMB. A model of risk analysis in analytical methodology for biopharmaceutical quality control[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2018, 72(3): 317 - 331.
- [9] 周莉婷, 罗建辉. 生物制品上市申请药学申报资料常见问题和审评关注要点分析[J]. *中国新药杂志*, 2020, 29(3): 264 - 268.
- [10] ICH. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology [EB/OL]. (2005 - 11) [2022 - 10 - 14]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>.
- [11] SOUSA LVE, GONÇALVES R, MENEZES JC, et al. Analytical method lifecycle management in pharmaceutical industry: a review[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2021, 22(3): 128.
- [12] SCHWENKE JR, O'CONNOR DK. Design and analysis of analytical method transfer studies[J]. *J Biopharm Stat*, 2008, 18(5): 1013 - 1033.
- [13] ERMER J, AGUIAR D, BODEN A, et al. Lifecycle management in pharmaceutical analysis: how to establish an efficient and relevant continued performance monitoring program[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 181: 113051.
- [14] 张忠兵, 王旸, 白玉. 抗体偶联药物研发及药学审评要点[J]. *药学报*, 2020, 55(8): 1971 - 1977.
- [15] 韦薇, 罗建辉, 尹红章, 等. 重组单克隆抗体相关物质和相关杂质的研究与评价[J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(8): 906 - 911.
- [16] 付志浩, 钟欣, 徐刚领, 等. 抗体类药物蛋白 A 残留检测方法的方法学验证[J]. *中国新药杂志*, 2022, 31(12): 1169 - 1177.
- [17] ROZET E, LEBRUN P, HUBERT P, et al. Design Spaces for analytical methods[J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2013, 42: 157 - 167.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2022-11-14