

基于多变量数据分析的生物药制剂处方稳健性研究

聂磊^{1,2}, 方伟杰³, 郭婷婷^{1,2}, 钱慈², 章熠², 瞿海斌³, 王海彬^{1,2}

(1 浙江博锐生物制药有限公司, 台州 318000; 2 海正生物制药有限公司, 杭州 311404;

3 浙江大学药学院, 杭州 310058)

[摘要] **目的:**以抗体偶联小分子药物(ADC)HS630为例,探讨多变量数据分析(MVDA)在生物药制剂处方稳健性研究中的应用。**方法:**采用5因子2水平的部分析因设计,考察蛋白质含量、3种辅料含量及pH值对关键质量属性的影响规律。各组制剂样品制备后分别置于高温条件下28d和光照条件下10d,进行多聚体含量和游离DM1含量检测和结果分析。**结果:**采用偏最小二乘法(PLS)进行模型拟合和数据分析,模型拟合良好,预测性能尚可。处方中各辅料和pH的变异对多聚体含量和游离DM1含量均无显著影响。蛋白质含量和pH的升高会在一定程度上增加冻干制剂中游离DM1的含量,但影响并不显著。光照和高温对各处方均有显著影响,但影响趋势一致且整体变化幅度不大。本研究范围内制剂处方稳健。**结论:**采用MVDA方法进行生物药制剂稳健性研究,可以对不同处理条件获得的多维数据进行分析,识别关键制剂组分,并考察处理条件对关键质量属性的影响。

[关键词] 多变量数据分析;生物药制剂;处方稳健性

[中图分类号] R945 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)06-0576-07

Study on the formulation robustness of biopharmaceutical drug products based on multivariate data analysis

NIE Lei^{1,2}, FANG Wei-jie³, GUO Ting-ting^{1,2}, QIAN Ci², ZHANG Yi², QU Hai-bin³, WANG Hai-bin^{1,2}

(1 BioRay Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou 318000, China; 2 Hisun Biopharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 311404, China; 3 Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the feasibility of multivariate data analysis (MVDA) in formulation robustness study of biopharmaceutical drug products by taking an antibody-drug conjugate (ADC) HS630 as example. **Methods:** A two-level fractional factorial design with five factors was used to investigate the effects of protein content, contents of three excipients and pH on critical quality attributes. After preparation, the samples of each group were exposed to high temperature for 28 d and light for 10 d, respectively. The contents of polymers and free DM1 were detected and analyzed. **Results:** Partial least squares (PLS) method was used for model fitting and data analysis, and the model seemed good with an acceptable predictive capability. All the excipients and pH had no significant effect on the contents of polymers and free DM1. Although it was not significant, a higher free DM1 content was noticed with higher protein content and higher pH conditions. Light and high temperature had significant effects on the attributes of drug product with a similar trend but small ranges. The formulation in the studied range was regarded as robust. **Conclusion:** Taking MVDA method into formulation robustness study of drug products can analyze the multi-dimensional data obtained under different treatment conditions. The critical components of the formulation can be identified, and the influence of treatment conditions on the critical quality attributes can be investigated.

[Key words] multivariate data analysis; biopharmaceutical drug product; formulation robustness

[基金项目] 国家重点研发计划资助项目(2021YEE0201800);浙江省重点研发计划(2021C03089)

[作者简介] 聂磊,男,博士,正高级工程师,主要从事生物制药研究。联系电话:(0571)63281566,E-mail:lei_nie@126.com。

[通讯作者] 瞿海斌,男,教授,博士生导师,主要从事药品质量控制及过程分析技术研究。联系电话:(0571)88208428,E-mail:quhb@zju.edu.cn。王海彬,女,博士,正高级工程师,主要从事生物制药研究。联系电话:(0571)63281566,E-mail:haibin.wang@bioraypharm.com。

与化学小分子药物相比,生物药的分子量更大,结构和理化性质也更为复杂。以单克隆抗体为例,其分子量高达 150 kDa,且抗体序列中存在多个潜在的修饰位点,其在表达、纯化、储存及运输过程中,受到微环境的影响会发生降解、聚合或翻译后修饰,造成药品质量批间差异增大,甚至可能会影响药物的药动学特征、生物学活性和免疫原性等,引起临床的不良后果^[1-5]。因此,针对生物药的特性,通过处方筛选和优化获得稳健的药物制剂处方,增强生物药存储和运输稳定性,是保障临床用药安全性和有效性的重要手段。

制剂中的辅料和活性成分通常通过批次生产获得,操作人员、环境、生产地点、供应商、生产工艺的变化都可能导致其特性的改变,因此即使每批次辅料和活性成分均符合质量标准,仍然不可避免地存在一定的批间差异^[6]。制剂处方的稳健性研究就是研究制剂中辅料的变化和活性成分的变化对药物关键质量属性的影响^[7]。随着监管部门和制药企业对质量源于设计(quality by design, QbD)的理解和接受,越来越多的企业应用 QbD 理念进行制剂处方的筛选和稳健性研究。Awotwe-Otoo 等^[8]采用 QbD 方法评估了单克隆抗体冻干制剂处方组分及其相互作用对关键质量属性的影响,并确定了最佳的辅料浓度和 pH 值,获得了制剂处方的设计空间。Martin-Moe 等^[9]系统地提出了基于 QbD 理念的生物药制剂工艺开发方法。Wurth 等^[10]首次阐述了基于 QbD 理念的单克隆抗体药物制剂处方稳健性研究方法,并结合长期稳定性质量标准对不同的模型拟合结果和处方稳健性判断标准进行了研究。

为了充分、快速地评估和理解各处方的差异,在处方筛选和稳健性研究中通常采用多种实验条件(如高温、高湿、光照、冻融及振荡等)开展研究,并设置不同的处理时间进行关键质量属性检测。由此获得的数据通常是多维、复杂的,包含了处方、实验条件及时间等多个维度,这为数据分析带来了挑战。多变量数据分析(multivariate data analysis, MVDA)又称多变量分析或多元统计分析,是化学计量学的重要内容,其技术核心是将高维的数据空间投影到低维的主成分,使得数据分析问题得到极大简化。近些年,随着计算机科学和化学计量学的发展, MVDA 技术在生物制药领域得到了广泛应用,如细胞培养基开发^[11]、根本原因分析(root cause analysis, RCA)^[12-13]、过程理解和优化^[14-15]以及过程分析技

术(process analysis technology, PAT)^[16-18]等,但在制剂处方稳健性研究中鲜有报道。

本文以抗体偶联小分子药物(antibody drug conjugates, ADC) HS630 为例,探讨 MVDA 在制剂处方稳健性研究中的应用。HS630 是罗氏公司已上市药物 Kadcyla[®](trastuzumab-MCC-DM1, T-DM1)的生物类似药,由浙江博锐生物制药有限公司开发,目前正在开展临床研究。

材 料

1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),色谱柱为 TSKgel G3000SW_{XL}(日本 TOSOH 公司,300 mm × 7.8 mm, 5 μm)和 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(美国安捷伦公司,150 mm × 4.6 mm, 5 μm); Epsilon-2-6D-LSC plus 冻干机(德国 Christ 公司); Labonce-120PS 药品强光稳定性试验箱(北京兰贝石恒温技术有限公司); KBF 720 恒温恒湿箱(德国 Binder 公司)。

2 试药与试剂

HS630(批号:S15001)由浙江博锐生物制药有限公司生产并提供;辅料级吐温 20(目录号:4116-04,批号:000020687)购自美国 J. T. Baker 公司;辅料级琥珀酸(目录号:100681,批号:K43601781)、辅料级蔗糖(目录号:103789,批号:K44582392)、色谱纯乙腈(目录号:100665,批号:1755230442)和色谱纯甲醇(目录号:100837,批号:1734407415)均购自德国 Merck KGaA 公司;辅料级氢氧化钠(批号:100920140510)购自湖南尔康制药股份有限公司;色谱纯三氟乙酸(目录号:TR4296-013,批号:1111058)购自美国 Tedia 公司;色谱纯异丙醇(目录号:167880010,批号:14090453)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;10 mL 中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(目录号:V010110715A,批号:6102834288)购自肖特玻璃科技(苏州)有限公司;注射用冷冻干燥无菌粉末用氯化丁基橡胶塞(目录号:7001-3059,批号:3138013164)购自新加坡西氏医药服务新加坡私人有限公司;磷酸二氢钾(目录号:10017608,批号:20130709)、氯化钾(目录号:10016318,批号:20130913)、三水合磷酸氢二钾(目录号:10017518,批号:20121130)均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。注射用水由浙江博锐生物制药有限公司制备,超纯水由 Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)制备。

方法与结果

1 实验设计

对 HS630 制剂处方中的关键组分进行稳健性研究,分析各制剂辅料和活性成分在实际生产过程中由于各种原因可能产生的差异及其对药物质量产生的影响。采用 5 因子 2 水平的部分析因设计(分辨率为 III,含 8 个实验设计和 2 个重复的中心点),考察蛋白质含量、3 种辅料(蔗糖、琥珀酸和吐温 20)含量及 pH 值对关键质量属性多聚体含量和游离 DM1 含量的影响规律。实验设计的因素水平和编码值见表 1,因子水平的设置综合考虑了预期的质量标准、不同批次原辅料可能引起的差异、制剂配液过程中的偏差及分析方法的变异等。按照表 2 实验设计完成样品配制后进行冻干,获得 10 组不同

处方样品,其中处方 9 和 10 为目标制剂处方的实验重复。将前述样品溶解后进行多聚体含量和游离 DM1 含量测定,结果见表 2。为进一步考察不同处方的稳健性,采用高温(40 ℃)和光照条件(4 500 ± 500) Lx 进行强制降解实验研究,并分别于光照 d 10,高温 d 14 和高温 d 28 取样进行多聚体含量和游离 DM1 含量测定,实验条件和检测结果见表 3。

表 1 部分析因设计的因素和水平

关键工艺参数	编码值		
	-1	0	+1
蛋白质含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	17	20	23
蔗糖含量/%	4.5	6	7.5
琥珀酸浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	7.5	10	12.5
吐温 20 含量/%	0.012	0.020	0.028
pH 值	4.6	5.0	5.4

表 2 部分析因设计方案及检测结果

实验号	处方号	蛋白质含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	蔗糖含量/%	琥珀酸浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	吐温 20 含量/%	pH 值	多聚体含量/%	游离 DM1 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
1	1	23	7.5	12.5	0.028	4.6	2.64	1.50
2	2	17	4.5	12.5	0.012	4.6	2.45	1.10
3	3	17	4.5	7.5	0.028	4.6	2.40	1.10
4	4	17	7.5	12.5	0.012	5.4	2.53	1.36
5	5	23	4.5	12.5	0.028	5.4	2.55	1.91
6	6	23	7.5	7.5	0.012	4.6	2.54	1.73
7	7	17	7.5	7.5	0.028	5.4	2.46	1.40
8	8	23	4.5	7.5	0.012	5.4	2.59	1.90
9	9	20	6.0	10.0	0.020	5.0	2.43	1.80
10	10	20	6.0	10.0	0.020	5.0	2.58	1.43

表 3 强制降解实验条件及结果

实验号	处方号	光照时间/d	高温时间/d	多聚体含量/%	游离 DM1 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	实验号	处方号	光照时间/d	高温时间/d	多聚体含量/%	游离 DM1 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
11	1	10	0	2.77	1.78	26	6	0	14	2.62	2.19
12	2	10	0	2.61	1.31	27	7	0	14	2.48	1.92
13	3	10	0	2.62	1.34	28	8	0	14	2.90	3.43
14	4	10	0	2.88	1.56	29	9	0	14	2.57	2.24
15	5	10	0	2.97	2.14	30	10	0	14	2.66	2.58
16	6	10	0	2.69	1.90	31	1	0	28	2.84	3.35
17	7	10	0	2.64	1.24	32	2	0	28	2.71	2.81
18	8	10	0	3.09	1.76	33	3	0	28	2.59	2.60
19	9	10	0	2.85	1.51	34	4	0	28	2.71	2.42
20	10	10	0	2.97	1.49	35	5	0	28	2.87	3.22
21	1	0	14	2.70	2.33	36	6	0	28	2.72	2.16
22	2	0	14	2.59	1.59	37	7	0	28	2.60	3.54
23	3	0	14	2.50	1.73	38	8	0	28	3.11	3.93
24	4	0	14	2.59	2.33	39	9	0	28	2.72	2.45
25	5	0	14	2.72	2.85	40	10	0	28	2.74	2.71

2 样品的制备及稳健性研究

按照实验设计表进行 HS630 溶液配制,并经无菌过滤后,手动分装至 2 mL 西林瓶中,每瓶装量体积为 1 mL。样品经冷冻干燥获得制剂样品。

各实验设计组每组随机取 3 支制剂样品进行多聚体含量和游离 DM1 含量检测,计算平均值作为零时检测结果;每组随机取样 3 支制剂样品置于药品强光稳定性实验箱 $[(5 \pm 3) ^\circ\text{C}]$,光强为 $(4\ 500 \pm 500) \text{ Lx}$ 中,10 d 后进行多聚体含量和游离 DM1 含量检测;另取 6 支制剂样品置于 $(40 \pm 2) ^\circ\text{C}$ 恒温恒湿箱中,分别于 d 14 和 d 28 进行多聚体含量和游离 DM1 含量检测,各实验检测结果见表 3。

3 多聚体含量测定

将 HS630 样品溶于 1 mL 超纯水,取适量溶液用超纯水稀释至 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。采用 TSKgel G3000SW_{XL} (300 mm \times 7.8 mm, $5 \mu\text{m}$) 色谱柱进行多聚体含量测定;流动相为 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸钾缓冲液, $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钾和 15% 异丙醇;流速 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,等梯度运行 30 min;检测波长 280 nm,柱温 $25 ^\circ\text{C}$ 。按照面积归一化法计算多聚体含量。

4 游离 DM1 含量测定

将 HS630 样品溶于 1 mL 超纯水,取 400 μL 加色谱乙醇 800 μL ,混匀后置于 $2 ^\circ\text{C} \sim 8 ^\circ\text{C}$ 静置 20 min, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,取上清液进行游离 DM1 含量检测。采用 Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm \times 4.6 mm, $5 \mu\text{m}$) 色谱柱;流动相 A 为 0.1% 三氟乙酸水溶液,流动相 B 为 0.08% 乙腈溶液,梯度洗脱:0~40 min, A 70%~15%;40~41 min, A 15%~0%;41~44 min, A 0%;44~45 min, A 0%~70%;45~50 min, A 70%;流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长 252 nm,柱温 $35 ^\circ\text{C}$ 。

5 数据分析

5.1 模型拟合 在制剂处方的稳健性研究中,对于不同的实验条件(如高温、光照、振荡、冻融等)和不同的处理时间,传统的方法是根据实验设计对不同条件和不同时间分别进行模型拟合和分析,评估关键工艺参数对关键质量属性的影响。该方法费时、繁琐,且无法系统评估不同实验条件和处理时间对关键质量属性的影响。

本研究将蛋白质含量、各辅料的含量及强制降解实验条件(高温和光照)设置为实验因子 X ,以多聚体含量和游离 DM1 为 Y ,采用偏最小二乘法(PLS)进行模型拟合和数据分析。采用 SIMCA-P

(version 14.1,瑞典 Umetrics 公司)进行数据预处理和 PLS 回归模型拟合,通过交叉验证得到模型的最佳主成分数为 3,建立的 PLS 模型结果如图 1 所示。 $R^2 Y(\text{cum})$ 是模型的累积回归决定系数,代表在 Y 轴方向随着主成分增加模型的累积解释率; $Q^2(\text{cum})$ 是模型的累积预测率,代表了模型的预测能力。理论上 R^2, Q^2 数值越接近 1 说明模型拟合的准确性越好,通常情况下, $R^2 > 0.8$ 认为模型拟合较好, $Q^2 > 0.5$ 认为模型具有较好的预测能力,且两者差值不应过大。结果表明,本研究的 $R^2 Y(\text{cum})$ 和 $Q^2(\text{cum})$ 分别为 0.82 和 0.64,表明模型拟合良好,且预测性能尚可。回归模型能够较好地解释 Y ,第 1 个主成分解释了 48.3% 的变异,第 2 个主成分解释了 28.7% 的变异。

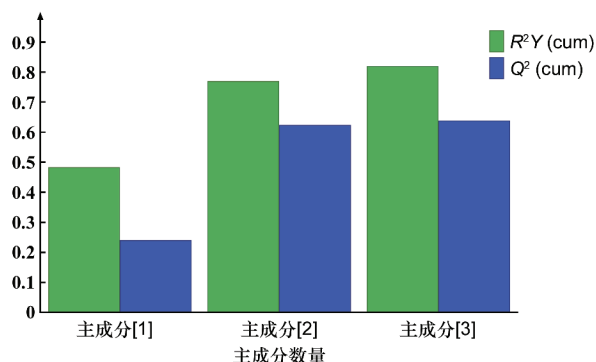


图 1 模型拟合结果

5.2 制剂处方稳健性分析 在 PLS 模型中,每个观测值在对应主成分方向上的投影称为得分,根据主成分得分绘制的图为主成分得分图(principal component score)。主成分得分是多变量数据分析结果中的一个重要参数,可以直观看出不同观测值之间距离,据此判别观测值的相似性或差异性。观测值之间距离越靠近,其相似性越高;反之,如果观测值之间距离越远,其差异性越大。与之相对应,原始变量的相似性或差异性可以用主成分载荷图(principle component loadings plot)展示。主成分载荷表征了主成分模型(线、平面或超平面)中每个原始变量(X 和 Y)的贡献程度。在得分图和载荷图上,距离原点近的观测值或变量对模型贡献较小、距离远的贡献大^[19]。此外,载荷图与得分图是互相补充说明的,得分图上给定方向上的观测值的位置受到载荷图上同样方向上的变量影响。

本研究 PLS 模型前 2 个主成分得分图如图 2 所示,图中每个点代表一个实验条件,数字编号为表 2

和表 3 中的实验号。蓝色为高温 0 时结果,绿色和红色为高温 14 和 28 d 结果。 $t[1]$ 表示第 1 个主成分, $t[2]$ 表示第 2 个主成分。前 2 个主成分的载荷

图如图 3 所示,图中每一个点代表一个原始变量,绿色为 X 变量,蓝色为 Y 变量。 $w * c[1]$ 表示第 1 个主成分, $w * c[2]$ 表示第 2 个主成分。

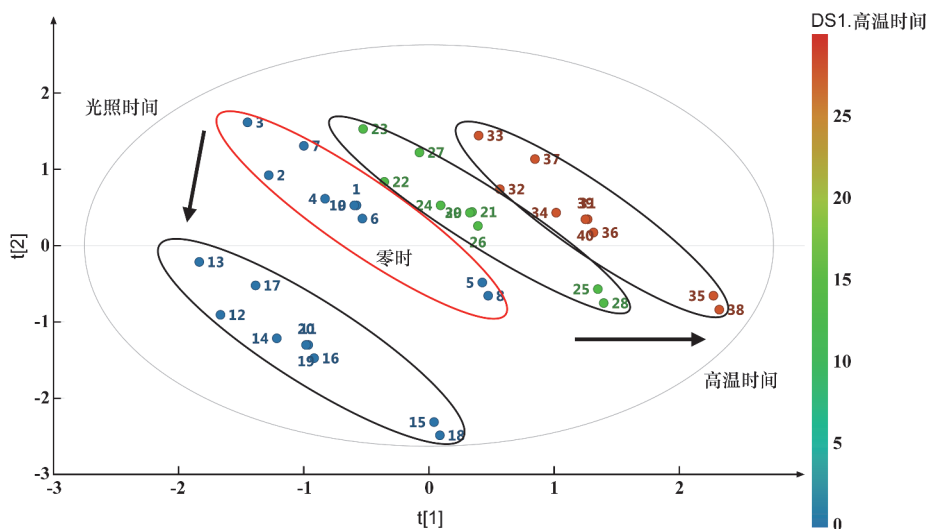


图 2 前 2 个主成分得分图

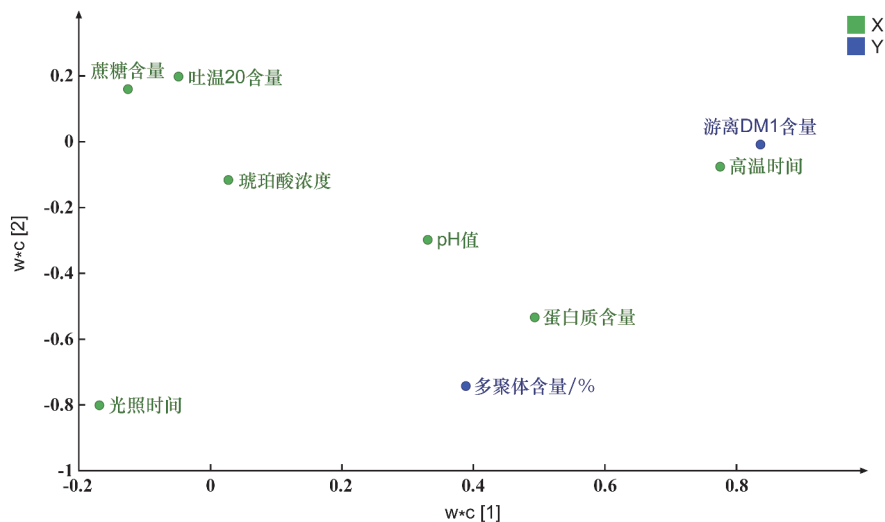


图 3 前 2 个主成分载荷图

得分图显示冻干后制剂零时样品呈长条状均匀分布,其中 5 号和 8 号处方单独分布在第三象限,呈现一定的偏离趋势。结合载荷图中蛋白质含量和 pH 值分布在第三象限并远离中心点,提示这两组处方的偏离与蛋白质含量和 pH 值有关,经确认 5 号和 8 号处方均为高蛋白浓度且高 pH 值处方;载荷图中 Y 变量多聚体含量和游离 DM1 含量均在两组制剂处方的偏离方向,提示这两组处方的多聚体含量和游离 DM1 含量有增高趋势。数据分析发现,5 号和 8 号制剂处方的游离 DM1 含量明显高于其

他制剂处方,但整体含量仍然低于 $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,远低于质量标准,多聚体含量则整体偏差不大(见表 2),提示高浓度和高 pH 条件下进行制剂冻干会导致游离 DM1 含量增加。在回归系数图中(见图 4A),我们观察到蛋白质含量和 pH 值的误差线(回归系数的置信区间)均跨越零点,表明该回归系数与零无显著差异,提示蛋白质含量和 pH 值并不是导致游离 DM1 含量增加的显著独立因素,后续研究中需继续研究确认并考察 2 个因子之间的交互作用。

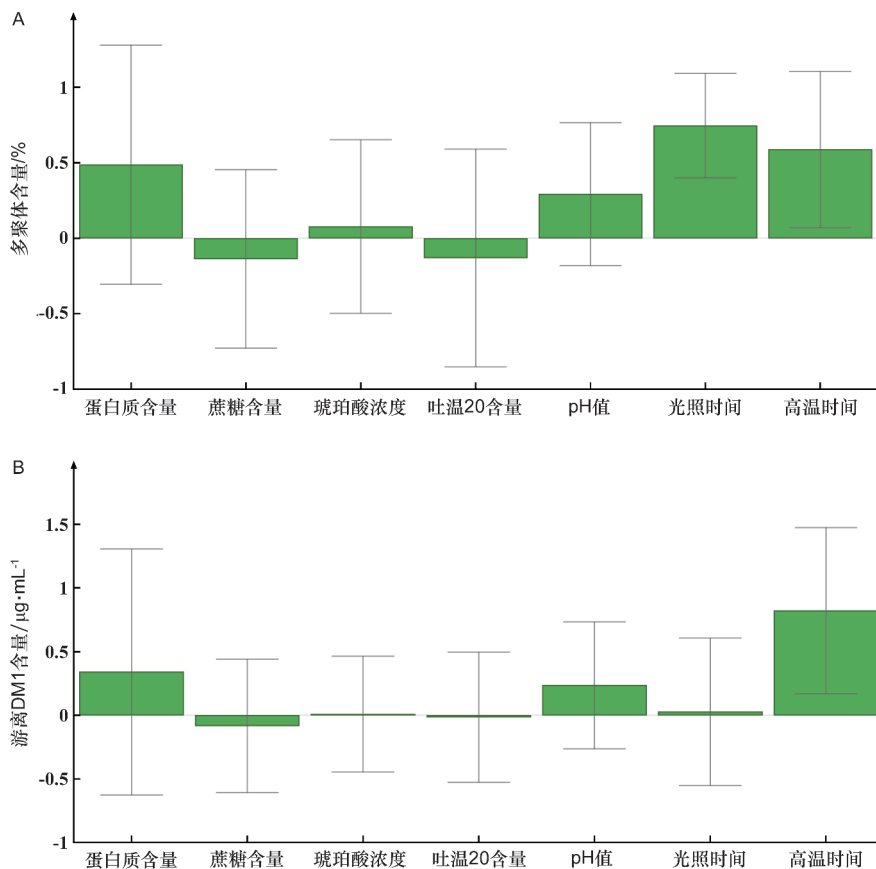


图4 多聚体含量(A)和游离DM1含量(B)的回归系数图

在得分图(图2)中,各处方经高温处理后整体沿第1个主成分的方向向右偏移,且时间越长偏移越多,表明高温对各处方的影响趋势一致,各处方在受到高温压力时表现出了相同的变化趋势。结合载荷图(图3)发现,游离DM1含量落在横轴即第1个主成分上且远离中心点,表明高温对游离DM1含量有显著影响;在回归系数图(图4B)中,高温时间的误差线未跨越零点且绿柱在横轴以上,表明高温时间与游离DM1含量呈显著正相关性,即高温显著促进DM1的解离,高温时间越长各处方样品解离的DM1含量越高。从绝对数值来看,高温28d后游离DM1含量低于 $4\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,约为零时的2倍左右,但仍远低于质量标准,风险可控。同样,高温对多聚体含量也有显著影响,且呈现正相关性,即高温时间越长各处方样品多聚体含量也越高,但是从绝对数值来看,多聚体含量整体变化不大,高温28d后最高增加至3.11%,远低于质量标准。

各处方经光照处理后,在得分图中整体沿横坐标向下偏移(图2),表明光照对各处方的影响趋势一致,各处方在受到光照后表现出了相同的变化趋

势。由于光照后处方在得分图上沿着第2个主成分方向(纵轴方向)移动,垂直于游离DM1含量所在的第1主成分(图3),因此推测光照时间对游离DM1含量无显著影响,这在回归系数图(图4B)中光照时间的柱高和误差线上得到了证实。相反,光照时间对多聚体含量有显著影响,回归系数图(图4A)中光照时间的绿柱在横轴上方表明光照时间和多聚体含量呈显著正相关性,即光照会显著促进蛋白聚集,这主要与光诱导的不可逆共价交联有关^[20]。从绝对数值来看,光照10d后多聚体含量由平均2.5%增加至平均2.8%,增加幅度很低且远低于质量标准,风险可控。

综上所述,处方中各辅料和pH在研究范围内的变异对关键质量属性多聚体含量和游离DM1含量均无显著影响。蛋白质含量和pH值的增高会一定程度上增加冻干制剂中游离DM1的含量,但影响并不显著。光照和高温对各处方均有显著影响,但影响趋势一致。高温会显著促进多聚体含量的增加和DM1的解离,光照会显著促进蛋白聚集,但整体变化幅度不大,远低于质量标准。因此,本研究范围内

制剂处方稳健,生产及保存时应注意避光,且应在长期条件下继续研究温度对关键质量属性的影响趋势。

讨 论

基于 QbD 理念的生物药制剂处方稳健性研究是早期工艺开发和临床晚期工艺表征中的重要环节,是保证上市后药物安全有效的重要手段^[10]。尽管监管当局推荐采用 QbD 的方法进行制剂处方研究,但是与细胞培养和下游纯化相比,关于生物药制剂稳健性的研究较少,关注度较低。

本研究以 ADC 药物 HS630 为例,探讨基于多变量数据分析的生物药制剂处方稳健性研究方法。本研究通过分析因设计研究处方中辅料含量和活性成分的差异对关键质量属性多聚体含量和游离 DM1 含量的影响,并将样品置于高温和光照条件下放大处方的差异。在数据分析时,将高温和光照与辅料的含量等一起设置为实验因子 X ,采用 PLS 法进行模型拟合和数据分析。结果表明,本制剂处方在研究范围内是稳健的。在制剂稳健性研究中采用 MVDA 的方法,可以快速对不同处理条件获得的多维数据进行分析,识别关键制剂组分,并考察处理条件对关键质量属性的影响^[21-23]。对于识别的关键制剂组分,可以通过 DOE 建模或单因素分析确定设计空间,制定控制策略,以保证产业化生产过程中产品质量的稳定性。此外,随着后续研究数据的积累,可以对模型进行更新,进一步提高模型的可靠性和预测性。

制剂处方的稳健性研究应基于风险评估进行科学评价,并结合实际生产、储存、运输、临床用药等多种条件进行综合考虑^[6]。本研究为制剂处方的稳健性研究提供了新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] CHUNG S, TIAN J, TAN ZJ, *et al.* Industrial bioprocessing perspectives on managing therapeutic protein charge variant profiles[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2018, 115(7): 1646-1665.
- [2] YEUNG YA, LEABMAN MK, MARVIN JS, *et al.* Engineering human IgG1 affinity to human neonatal Fc receptor: impact of affinity improvement on pharmacokinetics in Primates[J]. *J Immunol*, 2009, 182(12): 7663-7671.
- [3] WALSH G, JEFFERIS R. Post-translational modifications in the context of therapeutic proteins[J]. *Nat Biotechnol*, 2006, 24(10): 1241-1252.
- [4] BERTOLOTTI-CIARLET A, WANG WR, LOWNES R, *et al.* Impact of methionine oxidation on the binding of human IgG1 to FcRn and Fcγ receptors[J]. *Mol Immunol*, 2009, 46(8-9):

- 1878-1882.
- [5] KOZLOWSKI S, SWANN P. Current and future issues in the manufacturing and development of monoclonal antibodies[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(5-6): 707-722.
- [6] 邱晓, 罗建辉. 重组单克隆抗体药物制剂处方的作用及相关审评要点[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(16): 1947-1954.
- [7] GABRIELSSON J, SJÖSTRÖM M, LINDBERG NO, *et al.* Robustness testing of a tablet formulation using multivariate design[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006, 32(3): 297-307.
- [8] AWOTWE-OTOO D, AGARABI C, WU GK, *et al.* Quality by design: impact of formulation variables and their interactions on quality attributes of a lyophilized monoclonal antibody[J]. *Int J Pharm*, 2012, 438(1-2): 167-175.
- [9] MARTIN-MOE S, LIM FJ, WONG RL, *et al.* A new roadmap for biopharmaceutical drug product development: integrating development, validation, and quality by design[J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(8): 3031-3043.
- [10] WURTH C, DEMEULE B, MAHLER HC, *et al.* Quality by design approaches to formulation robustness-an antibody case study[J]. *J Pharm Sci*, 2016, 105(5): 1667-1675.
- [11] SELVARASU S, KIM DY, KARIMI IA, *et al.* Combined data preprocessing and multivariate statistical analysis characterizes fed-batch culture of mouse hybridoma cells for rational medium design[J]. *J Biotechnol*, 2010, 150(1): 94-100.
- [12] GUNTHER JC, CONNER JS, SEBORG DE. Fault detection and diagnosis in an industrial fed-batch cell culture process[J]. *Biotechnol Prog*, 2007, 23(4): 851-857.
- [13] LE H, KABBUR S, POLLASTRINI L, *et al.* Multivariate analysis of cell culture bioprocess data: lactate consumption as process indicator[J]. *J Biotechnol*, 2012, 162(2-3): 210-223.
- [14] THOMASSEN YE, VAN SPRANG ENM, VAN DER POL LA, *et al.* Multivariate data analysis on historical IPV production data for better process understanding and future improvements[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 107(1): 96-104.
- [15] KIRDAR AO, CONNER JS, BACLASKI J, *et al.* Application of multivariate analysis toward biotech processes: case study of a cell-culture unit operation[J]. *Biotechnol Prog*, 2007, 23(1): 61-67.
- [16] MERCIER SM, DIEPENBROEK B, DALM MCF, *et al.* Multivariate data analysis as a PAT tool for early bioprocess development data[J]. *J Biotechnol*, 2013, 167(3): 262-270.
- [17] HAKEMEYER C, STRAUSS U, WERZ S, *et al.* At-line NIR spectroscopy as effective PAT monitoring technique in Mab cultivations during process development and manufacturing[J]. *Talanta*, 2012, 90: 12-21.
- [18] BHATIA H, MEHDIZADEH H, DRAPEAU D, *et al.* In-line monitoring of amino acids in mammalian cell cultures using Raman spectroscopy and multivariate chemometrics models[J]. *Eng Life Sci*, 2017, 18(1): 55-61.
- [19] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理: 主成分分析十个要点问题[J]. 药学学报, 2018, 53(6): 929-937.
- [20] BOMMANA R, CHAI Q, SCHÖNEICH C, *et al.* Understanding the increased aggregation propensity of a light-exposed IgG1 monoclonal antibody using hydrogen exchange mass spectrometry, biophysical characterization, and structural analysis[J]. *J Pharm Sci*, 2018, 107(6): 1498-1511.
- [21] RATHORE AS, BHUSHAN N, HADPE S. Chemometrics applications in biotech processes: a review[J]. *Biotechnol Prog*, 2011, 27(2): 307-315.
- [22] MERCIER SM, DIEPENBROEK B, WIJFFELS RH, *et al.* Multivariate PAT solutions for biopharmaceutical cultivation: current progress and limitations[J]. *Trends Biotechnol*, 2014, 32(6): 329-336.
- [23] 赵瑜, 胡昌勤, 姚尚辰, 等. 多变量数据分析方法在抗生素注射剂工艺评价中的应用[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(12): 1355-1362.

编辑:杨青/接受日期:2022-07-11