

生物制药商业化过程中的分析方法注意事项

作者: 科研技术事务部经理 Elena Gontarz 博士、分析与制剂科研部高级经理 Michael Farris、分析与制剂科研部科研经理 Sharon Young 博士、赛默飞制药服务质量控制部高级经理 Maria Johns 博士



生物制药生产时, 在工艺性能确认 (PPQ) 之前对生物制药的分析方法加以验证十分重要。作为保障生物制药质量和安全的关键环节, 分析方法的验证能够确保其在生物药生产和纯化过程中精确监控药品质量属性和工艺杂质。当项目即将进入到工艺性能确认 (PPQ) 阶段, 必须要把握监管机构的预期并确定最有效的方法进行分析方法验证。

分析方法验证前的准备

在进行 PPQ 测试前, 以及后续商业化生产的 CPV 持续工艺确认的项目, 必须按照人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) 的指导原则验证所有支持中间过程控制 (IPC) 测试和批次放行测试的方法。工艺验证策略影响验证方法, 尤其是中间过程控制 (IPC) 策略和最终的批次放行标准。契合目的的一般性分析方法足以确保在工艺性能确认 (PPQ) 之后无需进行中间过程控制。例如, 可能在有些领域已充分证明, 稳健的下游工艺能够持续清除工艺相关杂质, 所以在进行工艺性能确认测试之前认证此类方法通常就可以满足工艺性能确认工作的要求。在完成工艺性能确认之后, 如果已经积累了足够多的数据来应对杂质清除相关的所有监管要求, 则可将此项中间过程测试从持续工艺确认测试计划中移除。



分析方法的稳健性

在进行方法验证之前, 必须要证明分析方法具有稳健性。在药物开发生命周期的前期对分析方法的稳健性进行测试, 有助于确认该方法在药品的整个生命周期中是否能够达到预期效果。如果在生物制药工艺开发之后, 对分析方法进行了重大调整或药品质量属性发生显著变化, 则分析方法的稳健性可能需要进行额外的测试。因此, 在方法验证开始之前, 建议首先对方法的性能进行全面的风险评估, 进而确定在方法确认期间获取的数据是否与临床 I 期和 II 期放行测试和稳定性测试期间所收集的数据有所不同。如果在方法开发或确认的过程中存在缺陷, 则需要在方法验证之前予以解决, 以确保熟悉方法的性能特征, 由此一来才可能提高方法验证的成功几率。

方法开发过程中与方法验证之前进行的方法稳健性研究之间的区别在于所评估的设计空间的范围大小。一般而言, 方法开发过程中所评估的范围更广, 其重点是界定方法失效的临界值。而在方法验证期间, 情况却并非如此。方法验证期间的重点不在于如何界定方法失效的限值, 而是追求一种十分严格的控制, 通常是将分析方法实际检测的主要检测目标值增减 10% 到 20%, 以此来确保方法限值与真正的失效限值差距较大, 不过仍然保证了方法的常规性能具备灵活性。如果对方法的稳健性不加评估而过快地进入方法验证环节将可能错过关键问题。例如, 在未来生产批量的过程中, 不同色谱柱批次之间的不同性能可能会导致方法不符合其验收标准。在筹备后期计划时, 时间和经验的可变性经常会被低估。

在药品批次放行规范中, 最能从方法验证前的方法稳健性评估中受益的是纯度、杂质检查方法, 例如分子排阻色谱法 (SEC)、毛细管凝胶电泳法 (CGE)、毛细管等电聚焦法 (cIEF) 和阳离子交换色层分离法 (CEX), 以及诸如早期的毛细管等电聚焦法 (cIEF)、高结合力酶标板 (Binding ELISA)、后期的肽图谱等鉴别方法。药效方法同样受益于方法稳健性测试, 因为药效方法衡量的是分子在引发其预期生理反应方面的有效性。同时, 关键设备/试剂的性能可能因其使用寿命或批次的变化而变化, 例如生物试剂、色谱柱批次, 因此, 拥有一套用于关键设备/试剂鉴别的稳健的试剂鉴定流程也很重要。总体而言, 上述方法有助于鉴定分子的稳定性、关键质量属性, 以及原料药或药物的有效性。因此, 在方法验证之前了解其性能至关重要。



强制降解研究

强制降解研究是一项检验多种条件和多批次生物制药从而更广泛地强制分子降解途径的独立研究, 其过程涉及在比标准的稳定性研究中的压力和加速条件更为严峻的条件下降解药物和原料药。强制降解研究条件的选择取决于药品在生产、加工、包装、运输和装卸过程中暴露于不利条件的可能性。生产、加工、包装等因素对于生物制药的降解作用相互关联, 并且依赖于分子的理化特性、缓冲液、赋形剂和操作参数。强制降解研究所评估的典型条件包括高温、冷冻/解冻、搅拌、低酸碱度 (PH 值)、高酸碱度 (PH 值)、光稳定性和氧化。但是, 必须仔细考虑材料降解所应用的条件。如果材料在研究期间的降解过于剧烈, 则可能不会遵循自然降解过程中的降解途径, 从而导致您无法收集到准确的信息。

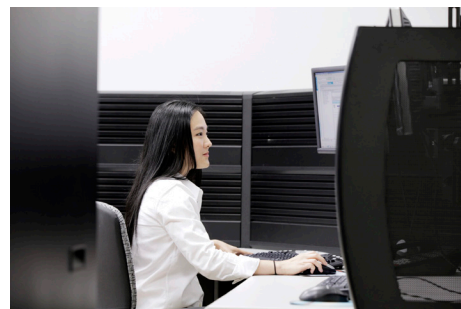
强制降解研究所评估的典型条件包括高温、冷冻/解冻、搅拌、低酸碱度 (PH 值)、高酸碱度 (PH 值)、光稳定性和氧化。

强制降解研究还决定了规范中的哪些方法能够表示稳定性以及检测到的药品相关杂质的具体类型。对药品在一般处理过程中所产生的情况 (例如, 氧化或曝光) 进行的数据检查能够有效指导组织验证工作。此外, 在长期热稳定性试验中使用的产品会自然而然地获取与产品相关的杂质, 因此它们通常是稳健性研究和方法验证的最佳材料。长期热稳定性研究不仅可以全面评估该分析方法在检测和定量分析药品杂质方面的能力, 还可以更加全面地评估当前系统的适用性标准, 例如, 分离度或实际药品杂质的定量限。

在药品生命周期中出现重大变化时，从强制降解研究中所收集到的信息同样有用，尤其是在 III 期临床试验所需材料生产之前或生产期间，例如，细胞培养基、纯化策略或最终的处方辅料的改变。在强制降解研究中出现此工艺变化之后，对药品进行检测、评估变化前后材料的主要降解产物，这能够确保之前的临床结果或毒理学数据不受工艺变化的影响。如果发现差异，则可以进一步对材料进行表征，确保其安全性和有效性符合标准且与工艺变化前的材料安全性和有效性相当。这项工作的范围很大程度上取决于临床使用阶段、在可比性评估的强制降解成分中确定的药品质量属性的变化程度，以及变化的性质。与增加最终原料药中辅料的浓度相比，更换培养基的风险要高得多，因此会进行更广泛的表征和强制降解研究。

方法验证

方法验证可以在阶段性设计的过程中进行。在此期间，有限的 ICH 验证研究在 I 期或 II 期临床试验期间进行，这一过程通常被称为方法确认。之后在筹备 III 期商业化阶段时再根据特定标准开展更广泛的测试。在准备方法验证之前，必须利用在常规测试、强制降解或工艺表征研究，以及 ICH 稳定性研究期间收集到的数据，确定每种方法相关的关键质量属性。同时，必须利用对分子行为的深刻认知，采取定制的分



生产、加工、包装等因素对于生物制药的降解作用相互关联，并且依赖于分子的理化特性、缓冲液、赋形剂和操作参数。

在准备方法验证之前，必须利用在常规测试、强制降解、工艺表征研究，以及 ICH 稳定性研究期间收集到的数据，确定每种分析方法相关的关键质量属性。

如果对于分析方法的历史缺乏深刻的理解，那么方法验证可能会失败。其他的失败原因还包括执行方法验证的策略和逻辑。在逻辑方面，方法验证可能会被复杂化，导致典型检测不具备代表性。例如，在一次检测中通过 12 小时中间精密度试验完成线性评估可能会引入变量，而这些变量通常不会在质量控制实验室出现，比如需要更多时间处理的庞大板数数量。当研究过于详细和冗长时，错综复杂的工作本身也会导致标准的失效。

如果缺乏完善的方法性能前期数据分析来了解其局限性,也会导致方法验证的失败。例如,我们建议在方法验证之前对其稳健性因素予以评估,由此一来可以避免您在根据既定的性能标准进行方法验证的过程中出现未知因素。而这些应在方法验证之前予以独立研究。方法验证失败的其他原因还包括:

- 分析人员培训不足
- 未能有效表征含量和杂质
- 未在相应的阶段进行方法验证,例如,在方法确认未完成的情况下,从方法开发阶段迅速推进至方法验证阶段



方法确认对于分析方法的性能特征进行了宝贵的早期评估,这对于设置方法验证标准的参数,如精密度、准确度和线性,至关重要。最终,基于内部风险的验证方法将直接影响方法验证过程中某些环节的成败。倘若一项方法验证研究的某些方面未能成功,则可以根据分析方法的生命周期确定该方法是否进行优化甚至重新开发。分析方法的生命周期允许在需要时(例如,验证失败后)对方法进行重大修改。其途径是使用完整的降解产品合理评估修改后的方法,并再次进行稳健性研究,之后在重新执行最后的方法验证之前,根据 ICH 指南重新评估方法性能参数。

方法转移

当第三方将经验证的方法转移至药品合同定制研发生产企业 (CDMO) 时,分析团队应审查方法开发和确认/验证报告,以便了解方法性能评估开始之前已经完成的工作。其次,CDMO 的分析团队应执行该方法,从而获得其可行性/试运行的最初结果,之后对所有适用的样品类型进行多次测试,确保实验室收集的性能数据与方法转出方实验室获得的性能数据相差无几。然后,便可将该方法送至质控实验室,按照 ICH 验证参数对其进行差距分析。同时,CDMO 的分析团队还应确认方法的执行符合预期,所得数据满足批准的质量协议中的预设标准,并且能够使用该方法放行 GMP 生产批次。有时,客户也可能选择不将其方法转移至 CDMO,但是方法转移可能会缩短药品上市的时间,并借助某中心的分析支持以简化故障偏差调查流程。

方法转移至药品合同定制研发生产企业 (CDMO) 时需要考虑的一些因素:

- **在世界其他地区获得原材料的潜在差异**——关键原材料可能无法在全球范围内获得, 尤其是胎牛血清或定制的合成多肽等生物成分。
- **设备**——最初的方法验证可能使用了不同的设备, 因此, CDMO 需要调整该方法使其适用于 CDMO 的设备, 或重新购买新设备, 以确保该方法在 CDMO 的实验室内实施具备可比性。此外, 在方法转移之前, 可能还需要进行设备桥接的准备工作。
- **技术能力**——分析团队与您的方法和/或分子的技术匹配度很重要。匹配度欠佳会在生产的每个阶段导致许多问题。
- **明确书面测试方法程序**——CDMO 应记录来自转移方实验室的所有信息, 确保获取之前的所有知识, 而且还能在未来分析人员接受培训或在常规测试出现异常结果时为他们提供参考。

在您将方法转移至医药合同定制研发生产企业 (CDMO) 之前, 请确保您了解他们的内部政策和程序, 这将有助于识别可能使转移过程复杂化的所有限制因素。总的来说, 与经验丰富的合作伙伴合作时, 保持清晰紧密的沟通、建立牢固的关系, 会让您受益匪浅。这些合作伙伴通常致力于研究各种分子并且具备多样的分析技术, 因此其储备的专业知识也尤为丰富。

结论

证明一款药品符合监管机构的质量要求, 需要采取高再现性和精确性的稳健分析方法。在方法验证之前, 进行适当的方法评估测试, 有利于实现 III 期临床试验和商业化阶段的成功。这些研究还能在药物制造商进行监管备案严格的评估中, 按照 cGMP 合规要求为其提供数据支持。方法验证能够确保落实必要的尽职调查, 进而在开发后期和商业化生产的过程中保障药品的安全和质量。因此, 了解如何处理这一关键活动可以推动药品审批流程, 加快药品上市。



关注赛默飞 Patheon™ 中国
获取更多资源

+86 21 6865 4588 • www.patheon.cn • pharmaservices@thermofisher.com

© 2021 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司保留所有权利。
发布日期: 2021/09

patheon™