

GxP cGMP GLP FDA/EMA
DNA Protein Peptide map
FDA/EMA NDA/BLA
DNA SDS-PAGE SOP WCBP
NDA/BLA
PIC/S NCE CDER USP, EP
cGMP GLP GxP
SOP SDS-PAGE DNA
FDA/EMA GxP GLP
NDA/BLA SOP
PIC/S NCE CDER USP, EP
WCBP DNA SDS-PAGE
GxP cGMP GLP
ICH Q6B
CBER
NBE

基础导论

ICH Q6B
NBE
CBER

NDA
mAb

生物制药实验室
法规认证



Agilent Technologies

生物制药实验室法规认证

Ludwig Huber

目录

前言.....	III
1 引言.....	1
1.1 法规和质量保证的重要性与价值.....	2
1.2 定义.....	3
1.3 信息资源.....	4
2 法规与指南.....	5
2.1 美国.....	7
2.2 欧洲.....	10
2.3 国际协调会议 (ICH).....	11
2.4 药品检查协定和药品检查合作计划 (PIC/S).....	13
2.5 美国药典 (USP).....	13
3 生物药品注册.....	15
3.1 临床前试验.....	18
3.2 临床研究.....	18
3.3 上市许可.....	20
3.4 生产.....	22
3.5 对电子记录和电子签名的要求.....	22
4 生物制药实验室的要求.....	23
4.1 法规综述.....	25
4.2 一般质量保证要求.....	26
4.2.1 文件化.....	26
4.2.2 组织结构与职责.....	27
4.2.3 人员资质审查.....	27
4.2.4 设施和环境.....	29
4.2.5 内部审计.....	30

4.3 与产品检测相关的特殊质量要求	31
4.3.1 抽样	31
4.3.2 检测物品的处置	32
4.3.3 检测	33
4.3.4 不合格检测结果的处理	34
4.3.5 数据验证和结果报告	34
4.3.6 试剂和试液	35
4.3.7 (有证) 标准物质	36
4.3.8 记录的保存和检索	37
4.3.9 设备	38
4.4.0 分析方法验证	42
5 生物药品的质量控制	49
5.1 ICH Q6B 指南——概述	51
5.2 分析方法	53
5.3 常规质量控制的技术指标	56
5.3.1 得到技术指标所需的信息	57
5.3.2 原料药和药物制剂的技术指标	58
5.4 验证质量标准和验收标准的方法	60
参考文献	63
术语表	67

前言

本书旨在向从事生物制药开发和制造的生物化学家和生物学家介绍 FDA 法规及等同的国际法规。对于质量管理人员以及参与生物药品注册过程的所有人员同样适用。本书还将针对规范化实验室如何以最具成本效益的方式执行法规要求提出策略与具体建议。

不出一日，读者便能了解到：

- 与生物制药研发、临床研究以及生产过程质量控制相关的 FDA 法规和等同的国际法规
- 药物生命周期中各项法规的应用和实施
- 生物药品的注册过程
- 实验室相关的质量保证一般原则
- 实验室的具体要求，例如实验室设备的验证、分析方法的验证，以及检测结果的审核与批准
- 生物药品和原料药的性能指标与验收标准设定
- 检测生物药品和原料药的常用分析方法和设备

本书中的观念与想法仅代表我的个人观点，并不一定反映安捷伦或 Labcompliance 的官方政策。

法规和质量标准是不断变化的，每隔几年就会更新。而监管机构和行业特别小组制定的实施指南，其发布更为频繁。因此当前时兴的技术可能并不适用于未来，在快速发展的生物制药开发和分析领域尤其如此。

应对所有信息进行定期更新，这一点非常重要，而只有通过在线信息工具（如因特网）才有可能做到。因此，我推荐下列与本书主题相关的定期更新网站：

<http://www.fda.gov>

生物制药行业法规和指南

<http://www.ema.europa.eu/>

欧洲药品管理局网站

<http://www.ich.org>

人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)网站

<http://www.picscheme.org/>

药品检查合作计划网站

<http://www.usp.org>

美国药典网站

<http://www.who.org>

世界卫生组织网站

<http://www.labcompliance.com>

该网站上有很多教程和参考文献，还有与实验室质量和合规问题有关的定期更新。

Ludwig Huber 博士

全球 FDA 和 ISO 17025 法规认证首席顾问

Labcompliance 公司

ludwig_huber@labcompliance.com

第 1 章

引言

引言

尽管历史上大多数药物都是通过小分子的化学合成得到的，但是近二十年来情况发生了巨大变化。越来越多的药用物质直接从生物中获得，和/或通过生物技术方法生产。

1.1 法规和质量保证的重要性 与价值

法规和质量保证原则在制药和生物制药行业发挥着日益重要的作用。从事新药开发的公司应学习、实施并执行相关法规，否则将无法获得药品的上市许可。一旦确定某种化合物将成为药品，就应开始监管工作。某些公司可能由于财力不足而无法完成新药上市所必需的所有临床研究和上市许可流程。然而，坚持质量保证原则也意义非凡，因为这将在可能的收购中提升公司的价值，也有利于公司获得其他公司转包的研究合同。

监管法规正日益全球化。当前研发一种新药并将其推向市场的成本高达两亿美元，并且这一成本还将继续增长，因此制药公司必须通过将药品销售到多个国家才能收回成本。要想销售药品，制药公司必须遵循目标国家的相关法规。有些国家的监管法规没有与国际标准接轨，这些国家生产药品、原料药和原材料的制药行业和制造商无疑面临着巨大的挑战。他们也许没有遵循国际法规的相关知识、经验和质量管理流程。然而，越来越多的发展中国家开始实施并执行根据工业化国家的高标准而制定的法规。

实验室在药品和原料药的研发和生产中扮演着重要角色，因此必须与生产厂商遵循相同的法规。至少要确保在生物制药实验室工作的每个人都能透彻地了解法规要求。本书致力于帮助实验室达到这一目标。

1.2 定义

术语“生物制品”、“生物技术药物制品”和“生物药品”有时被互换使用，但不同人理解的意思可能不同。为避免这种混用可能造成的混乱，有必要对这些术语进行定义。因此，本节对本书所涉及和使用的最重要的术语进行了定义，目的是使所有读者看到这些术语时联系到的是相同的含义。例如，本书中针对所有大分子药品均使用“生物药品”这一术语。

生物制品	通过生物工艺得到的治疗产品。
生物技术药品	用于治疗或在体诊断目的药品，全部或部分通过生物技术手段生产。
生物药品	基于蛋白质或核酸的药用物质，用于治疗或在体诊断目的，通过不同于天然（非工程）来源提取的方法生产。在本书中指基于大分子的所有药品。
仿制药	基于期满专利的仿制药品。
生物相似药品（欧洲） 仿制蛋白（美国）	基于期满专利的仿制生物药品。
GxP	质量管理规范，其中x可代表“L”（药物非临床研究质量管理规范）、“C”（药品临床试验管理规范）以及“M”（药品生产质量管理规范）。本书将频繁引用GxP。
cGMP	FDA术语中的药品生产质量管理规范（GMP）常称为cGMP，即动态药品生产质量管理规范。“动态”是指行业应始终执行FDA的实际（现行）指南和其他规则说明。在本书中GMP也包括cGMP。
FDA	FDA代表美国食品药品监督管理局。尽管美国FDA最为人们熟知，但其他国家还有其他等同机构。在本书中FDA是指美国FDA。

图 1
关于生物制剂和法规认证的相关定义

1.3 信息资源

本书仅对生物制药实验室的法规认证作一概述。读者可通过来自监管机构、行业/机构联合特别小组以及个人作者的大量可用的信息资源获取更多详细信息。法规和其他官方文件将在下一章进行论述。

有很多出版物出自个人作者，以传统期刊论文、在线文章和传统图书形式出版。对于在线文章，读者可以参考知名的互联网搜索引擎。本节对个人作者或组织出版的图书概述如下：

- 《生物制药、生物化学与生物技术》¹
该书概述了生物药品的科学与应用。书中有关于法规要求的详细信息。
- 《制药管理规范》²
该书提供有关制药和生物制药研发与市场审批流程的信息。
- 《FDA 药事管理：处方药、医疗器械与生物制剂指南》³
该书详细介绍法规要求和方法，并有关于生物制剂的章节。
- 《蛋白质药品》⁴
该书有专门章节讨论注射用蛋白制剂的法规问题。
- 安捷伦科技公司已出版两部基础导论，《分析仪器验证和系统验证》⁵和《分析方法验证》⁶。尽管不是专为生物制药实验室制定，但它们对充分了解生物制药实验室法规认证与质量保证的各方面内容非常有用。

第 2 章

法规与指南

法规与指南

制药行业是受监管程度最高的行业之一。在所有工业化国家和越来越多的发展中国家，药品研发与生产受到政府部门一系列法律、法规和指南文件的控制。最重要的基本法规即所谓的 GxP 法规，由药物非临床研究质量管理规范（GLP）、药品临床试验管理规范（GCP）和药品生产质量管理规范（GMP）组成。此外，还有针对产品标签、规范化环境中的电脑使用以及针对上市授权的具体法规。

法规的主要目的是保证药品的质量、安全性和有效性。对于新药的上市许可，有关部门将评估研究数据并确定该药品的治疗效益是否大于药品安全性不足所构成的风险。制药行业法规通常遵循高度关注数据准确性、可靠性和完整性的现代质量体系原则。

多数国家的监管过程理念相似，但执行状况却不尽相同。政府颁布法律，而管理机构通过制定相应法规，提供如何执行该法律的信息。管理机构也负责检查相关的行业执行情况，从而促进行业的合规性。

要遵循所有工业化国家以及不断增多的发展中国家的相关法规，对制药行业来说无疑是一项巨大的挑战。最理想的情况是各国实行统一的法规和上市许可程序，虽然这在短期内不可能实现，但人们已经开始努力至少在某些方面尝试统一。当前致力于法规和指南全球化的最重要的组织是药品检查协定和药品检查合作计划（PIC/S）和国际协调会议（ICH）。美国药典、欧洲药典和日本药典也正在不断统一检测方法。

本章主要介绍美国 FDA 和欧洲卫生局的作用并列举最重要的文件。另外，还介绍了对制药行业影响较大的其他组织和工作组（例如 PIC/S、ICH 和 USP）的工作与文件。

2.1 美国

在美国，药品的开发和生产受美国食品药品监督管理局（FDA）管理。FDA 的目标是通过保证人类药物、兽药以及生物制品的安全性、有效性和质量，保护公众健康。除药品外，FDA 还对食品、烟草、医疗器械以及化妆品进行管理。FDA 的法定权力源自《联邦食品、药品和化妆品法案》（FD&C）。该法案源自 1906 年颁布的《纯食品和药品法案》，该法案禁止掺假和冒牌的食品和药品的州际贸易。

早在 1938 年，美国国会便通过了第一版 FD&C。该法案首次规定，医药公司在新药上市前应对其安全性进行证明。该法案还增加了化妆品和医疗器械的法规，并包括改善消费者保护的全面更新内容。

1962 年的修正案规定，所有药品都应证明有效并安全，并授权 FDA 管理处方药广告。1976 年的《医疗器械修正案》授权 FDA 确保医疗器械（包括诊断产品）的安全性和有效性。

这些法律都非常概括，通常没有规定实施和执行的详细内容。为执行这些法律，联邦机构如美国食品药品监督管理局（FDA）颁布相应的规则或法规。这些法规作为美国联邦法规（CFR）在《联邦公报》上发布，告知公众和行业如何实施法律。

关于药品研发和生产最重要的 FDA 法规是药物非临床研究质量管理规范、药品临床试验管理规范以及药品生产质量管理规范（GxP）。图 2 列出了这些法规以及其他对于制药行业同样重要的法规。

部分	标题	适用于
11	电子记录和电子签名	所有 FDA 法规
50	受试者保护	GCP, 临床试验
56	伦理审查委员会	GCP, 临床试验
58	药物非临床研究质量管理规范	GLP 研究, 临床前
210	生产/分销	cGMP, 定义
211	制剂药	cGMP, 包括质量控制
312	研究中新药	GCP, 临床试验
314	新药上市许可	审批程序
320	生物利用度/生物等效性	临床前
511	试验用途的新动物药	动物药
514	新动物药申请	动物药
600	生物制品总则	生物制品
601	生物制品许可	生物制品审批
610	普通生物制品标准	cGMP

图 2

(生物) 制药行业的重要 FDA 法规

生物制品的生产和上市许可公布于 600、601 和 610 部分中。研究中的新生物制品和研究中的新药受相同法规管理。

一般说来, 法规不够详细, 不便于行业和 FDA 检查员的实施和执行。因此, FDA 针对大量主题制定了检查和行业指南。这些指南公布在互联网上, 供 FDA 员工和制药行业使用 (www.fda.gov, 搜索 "FDA Guidance"), 它们通过阐明国会法案或 FDA 法规的要求, 以及解释行业应该如何遵

循这些法案和法规的要求，为行业的法规认证提供协助。这些指南还提供具体的审查和执行方法，以确保 FDA 检查员高效、公平和一致地实施管理局的指令。法律和法规对行业来说是强制性的，而指南文件却不是。行业可决定使用备选方案以遵守法规。

与生物制药实验室相关的重要 FDA 指南：

- 分析流程和方法验证（草案）⁷
- 生物分析方法验证⁸
- 药品微生物实验室质量控制⁹
- 生物科技检查指南¹⁰

除制定法规、政策和指南文件外，FDA 还负责生产设施的许可和检查、产品检测，以及专利申请和药品广告の評価。

FDA 由几个中心构成，它们分别负责不同的产品，例如食品、药品、化妆品以及器械。这些中心由总统委派的长官领导。生物药品的评价与审批由药品评价和研究中心（CDER）以及生物制品评价和研究中心（CBER）进行。CDER 对主要的化学药品的研发和上市过程进行管理。CBER 对生物制剂进行管理。而对于生物药品，没有明确规定应由 CDER 还是 CBER 监管，通常根据具体情况而定。CDER 和 CBER 的管理程序和要求相似，但管理细节不尽相同。针对上市许可的主要规定文件有研究中新药申请（IND）、新药申请（NDA）以及生物制品许可申请（BLA）。

2.2 欧洲

在欧洲，药品的上市许可由欧洲药品管理局（前身为 EMEA，现在为 EMA）进行评估。它的总部位于伦敦，是欧盟的分权机构。其主要职责是保护和促进公众健康。EMA 对于人用药品的科学意见来自于其下属的人用药品委员会（CHMP）。如同在美国，在欧洲药品也必须通过上市许可，然后才能进行销售。申请上市许可的程序有以下几种：

- 1) 集中审批程序
- 2) 互认可程序
- 3) 成员国审批程序

最常用的程序是集中审批程序。成员国审批程序主要在仅针对单独的国家申请上市许可时适用。在一个国家通过上市许可后，申请人可将该国指定为参比国，并使用互认可程序在其他国家申请许可。除非存在安全风险，接受互认可程序的国家都将同意上市许可。

所有生物药品的上市许可必须使用集中审批程序。该程序的产品评价由 EMA 进行。在 EMA 内部，由人用药委员会（CHMP）对申请进行实际的评价并提出科学意见。基于此意见，欧盟将决定是否授予上市许可。欧盟指南（欧盟药品生产质量管理规范，卷 4：人用药和兽药生产质量管理规范¹¹）规定在欧洲销售的药品或所谓的医药产品要符合 GMP 要求。

2.3 国际协调会议 (ICH)

ICH 始于 1990 年，汇集了欧盟、日本和美国的监管机构和来自这三个地区的制药行业专家，一起讨论产品注册方面的科学和技术问题。

ICH 出版的指导原则，或者被成员国（例如欧盟）写入法律，或者被国家权力机构（如美国 FDA）推荐为指南。

与生物制药相关的最重要的文件是 ICH Q6B、Q5C、Q5D、Q5E 以及 S6 指南：

- ICH Q6B: 质量规格: 生物技术产品/生物制品的检验程序和验收标准¹²
该文件提供对重组或非重组细胞培养生产的蛋白质和多肽规格进行论证和设定的指南。范围仅限于性质明确的生物技术产品，尽管概念可能适用于其他生物制品。
- Q5C: 生物技术产品的质量: 生物技术产品/生物制品的稳定性检测¹³
该文件补充了其他通用的稳定性试验 ICH 指南, 讨论了活性组分通常为蛋白质和/或多肽的产品的特定稳定性检测程序。
- Q5D: 生物技术产品的质量: 用于生产生物技术产品/生物制品的细胞底物的衍生和表征¹⁴
该指南旨在对人和动物细胞系以及微生物细胞的适当的衍生标准提供广泛的指导, 这些衍生过程用于制备生物技术产品/生物制品, 以及制备和表征用于生产的细胞库。
- Q5E: 生产过程中发生变化的生物技术产品/生物制品的可比性原则¹⁵
该文件旨在为评估原料药或药品生产过程中不同的生物技术产品/生物制品发生变化前后的可比性提供准则。该文件未指定任何具体的分析、非临床或临床策略。该文件的重点在于质量方面。

- S6: 生物技术药物的临床前安全评价¹⁶

该指南主要推荐了用于生物技术药物临床前安全评价的基本框架。它适用于通过使用不同表达体系（包括细菌、酵母、昆虫、植物和哺乳动物细胞）的特征细胞生产的产品。

- Q2(R1): 分析程序的验证: 定义与方法学¹⁷

该指南是为分析方法验证设定参数和程序的国际标准。

2.4 药品检查协定和药品检查合作计划 (PIC/S)

PIC/S 是 GMP 法规和检查全球协调领域最重要的组织之一。其宗旨是“引导药品领域统一药品生产质量管理规范 (GMP) 标准和检查员体系的建立、执行和维持”。具体职责包括：制定和促进统一的 GMP 标准和指南文件；为各国主管机构，尤其是检查员提供培训；评估（和再评估）检查活动；以及促进主管机构和国际组织的合作与网络化。截至 2011 年 1 月共有包括来自欧盟所有成员国、澳大利亚、新加坡、加拿大的卫生机构以及美国 FDA 的 39 个机构加入 PIC/S。另外几个机构正在申请加入 PIC/S。没有自身独立 GMP 法规的新成员国将很可能遵循 PIC/S GMP，该法规与欧盟 GMP 指南非常相似。例如，瑞士、新加坡和澳大利亚已宣布将 PIC/S GMP 指南作为其本国 GMP 法规。

与生物药品相关的一个重要文件是 PIC/S 指南：生物技术生产检查¹⁸。

2.5 美国药典 (USP)

USP 为特定的应用制定专门的方法，并为 FDA 监管行业的不同分析方面制定通则。根据联邦食品药品和化妆品法案第 501 条规定，USP 方法为法定标准方法。为了获得上市许可，制造商应确保药用原料、辅料和药品符合 USP 标准。USP 业已制定了一些与质量控制实验室有关的通则。

- 通则 <111> “生物测定的设计和分析”¹⁹
该通则的目的是给出 USP 生物测定中针对生物统计过程的基本说明。
- 通则 <1058> “分析仪器验证”²⁰
该通则提供了分析仪器验证的基本框架，涉及从撰写技术指标和安装，到首次和持续的测试与维护的全过程。

- 通则<1226> “法定方法的验证”²¹

该通则适用于执行法定和标准方法的实验室。这些建议同样适用于实施其他实验室已验证方法的实验室。

美国也开发和提供用作常规检测的质控样品以及用于验证方法准确性的标准品和有证参考物质，有各种用于生物药品表征的参考物质可供选择。

第 3 章

生物药品注册

生物药品注册

药物的发现、开发和上市许可是一个漫长的过程，通常耗时 10 年以上。图 3 显示了该过程的几个阶段。首先是基础研究和发现活动，其结果用来决定潜在药物的作用靶位。发现阶段常常针对目标疾病对新化学实体（NCE）或新生物实体（NBE）进行筛选，然后对选中的 NCE 或 NBE 检测其潜在的毒性作用，以进一步筛选，减少候选药物的数量，进而进行全面的研发。药品的基础研发活动不受相关法规的监管。

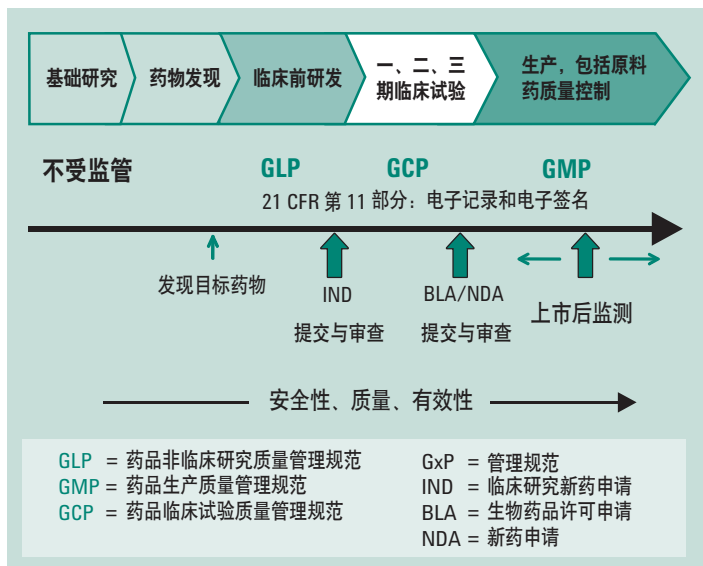


图 3
药品研发和注册流程

一旦目标化合物被确定为候选药物，便开始进入临床前研究，对其安全性做初步测试。这一阶段需要遵循药品非临床研究质量管理规范。临床试验阶段执行药品临床试验质量管理规范，生产阶段依据现行药品生产质量管理规范。质量控制实验室和原料药（API）的生产同样受药品生产质量管理规范管理。药品临床前研究结束时，公司需提交临床药物研究申请（IND）；临床研究结束时再提交新药申请（NDA）或生物药品许可证申请（NBA）。FDA 对申请进行审核以决定该药品是否进入下一阶段的研究。

生物药品许可证申请不受联邦食品、药品化妆品法（FD&C-Act）管辖，而是由公共健康服务法（PHS-Act）管理。药品和生物制品的临床研究要求基本相同，临床试验同样依据 FDA 的 21 CFR 第 312 条所作出的规定。

药品一旦注册上市，健康机构将定期对上市流通的药品及生产器械进行检查，确保其符合药品生产质量管理规范。如果不遵守该规范，健康机构会采取强制性措施，如向公司管理层发送警告信，以及禁止美国公司的产品出运。对于非美国本土企业，健康机构会向其发送进口警告。

药品研发阶段 GxP 管理规范的三个主要原则为：

- 安全，在获得药效的同时应该尽量确保不受不良反应的影响
- 优质，保证药品较高的技术品质
- 有效，证明药品的有效性

3.1 临床前试验

临床前试验由于并不在人体上试验，因此有时也被叫做“非临床”试验。这一试验应遵照药品非临床试验质量管理规范（GLP）。GLP 研究的数据是取得上市许可的必要条件。该阶段所进行的一系列测试其主要目的是确保后续临床试验中人体用药的安全性，另外还应获得初步的药效信息。典型的试验项目有毒理学试验、生物利用度以及药理试验。初步的稳定性信息也应该记录下来。最初在试管中（体外）进行试验，接着进行动物（体内）实验。美国关于药品非临床试验质量管理规范的法条载于 21 CFR 第 58 部分中。国际 GLP 法规依据经济合作与发展组织的 GLP 原则而制定²⁶，涉及实验室的组织结构以及实验室研究的计划、实施、监测、记录和报告等方面的要求。

药品非临床研究质量管理规范对实验室器材、动物房设施、员工和档案等都作出规定，要求试验数据的产生、管理和记录都必须更加正规化。比如，即便是五年前进行的一项试验，依据其记录依然可以重复该试验。

3.2 临床研究

临床前研究工作的主要目的是获得大量的信息，以证明药品足够安全可进行人体测试，而临床试验是新药上市前的最终测试。在这些试验中，将所研究的化合物用于人体，以此评价其治疗、预防、诊断特定疾病中的安全性和有效性。试验的结果中包含决定药品能否通过批准的最重要因素。

虽然临床试验目标是获得药品的安全性和有效性数据，但在此过程中，首要考虑还是受试者的安全。FDA 药物评价和研究中心（CDER）或生物药品评价和研究中心（CBER）监测临床试验的研究设计和实施，以确保受试者免受不必要的风险。临床试验阶段包括三个连续的批准前阶段和一个可选的批准后阶段。

图 4 表明了临床试验的主要目标、受试者类型、受试者数量及三个阶段的预期目标。该表格适用于一定范围内从大分子和小分子衍生的药物。

一期临床试验研究和评估药物的代谢和构效关系。它包括向人们初步介绍所研究的新药品。研究过程受到密切的监测，而且通常由志愿受试者参与试验，当然有时也会在病人身上测试。研究目的是确定药物在人体中的代谢和药理作用，以及随剂量增加出现的相关副作用。如果有可能，尽量搜集药品疗效的证据。

	一期临床试验	二期临床试验	三期临床试验
主要目标	评估人体使用安全性	探究药效	在更大群体范围内验证安全性和有效性
受试者类型	健康男性	病人	不同国家不同年龄的病人
受试者数量	10 - 100	50 - 500	2000 以上
持续时间	一年	1-2 年	3-5 年
预期结果	初步评估最大剂量	确定第三阶段的剂量	对安全性和有效性的全面理解

图 4

一、二、三期临床研究

在一期临床阶段应获得足够多的药物动力学和药理作用信息，这样有利于为二期临床试验设计可控、科学和有效的研究方案。在这一阶段中受试者数量通常少于 100 人，时间可持续一年。

二期临床试验包括早期临床对照研究，该研究主要搜集药品对某一疾病所表现出的特定症状的有效性的初步信息。这一阶段的试验也帮助确定常见的短期副作用和药品可能引发的危险。二期研究一般会得到良好的控制，密切的监测和几百人的参与。该研究通常持续 2 年，在研究结束时，主办者会与 FDA 讨论已取得的数据和三期临床计划。

在二期临床阶段获得初步的药物有效性证据后，开始第三阶段的研究。三期临床试验主要收集其他关于药物药效和安全性的信息，用以评价药物整体利益与风险的关系。该阶段也会提供足够的对普通人群的调查结果。三期临床研究一般会测试几千人，持续三到五年。另外，三期临床还将确定最终的剂型、产品定位，以及产品稳定性、包装和储存条件等事宜。

在二期和三期临床研究过程中，如发现研究过程存在不安全因素或者研究方案的设计有明显缺陷，无法达到预期目的的情况下，药物评价和研究中心（CDER）与生物药品评价和研究中心（CBER）可强制要求停止临床试验。

3.3 上市许可

在三期临床试验结束后，公司开始启动上市许可进程。这一过程需要一份完整的临床前研究以及临床试验数据的资料。这些资料打印出来往往有 10 万页甚至更多。

生物药品依照公共健康服务法（PHS-Act）而非食品、药品与化妆品法（FD&C-Act）的许可上市。FDA 有关传统药品和生物药品的法规分别参照 CFR 第 314 条（NCE）和 CFR 第 601 条（NBE）。监管机制的目的是为 FDA 提供足够的信息，对新药、传统药物的新药申请或生物制剂的生物制品许可申请作出评价。

在提交申请资料时，建议参照 ICH 的通用技术文档中的指导。

获得上市许可的步骤包括：

- 申请者要求在文件提交前与 FDA 会谈以澄清所有悬而未决的问题
- 申请者根据申请对象是传统药物还是生物制品，分别向药物评价和研究中心（CDER）或生物药品评价和研究中心（CBER）提交新药申请（NDA，纸质或电子版）
- FDA 会进行一个初步的技术筛选来检查文件是否完整。如果结论为“完整”，FDA 会将该申请归档，开始进入审查程序
- FDA 技术专家组负责对文件进行审查。这些专家组成员来自不同办公室，有化学家，物理学家，统计学家和药理学家等等
- 如果存在一些很容易纠正的缺陷，那么 FDA 会告知申请者
- 申请者纠正缺陷后重新提交新药申请
- FDA 准备初步的审查报告，同时可能实施 GMP 检查
- 由一位熟知此领域的组长进行最终审查，在审查时他/她可以咨询顾问小组
- 决定通知会在审查之日起 180 天内发出，除非与申请者达成协议延长时限
- 如果提交的报告通过审核，也就意味着新药申请获得批准

根据 1984 年通过的 Hatch-Waxman 法案规定，传统仿制药不需要经过完整的研发过程。该法案允许通过简化新药申请（ANDA）审核批准药品上市许可。提交的档案应能证明该仿制药所含的活性成分与 FDA 之前批准的药物有相同的生物等效性。生产商无需提交关于安全性和有效性的临床前和临床研究。

美国现行的法律对生物仿制药（FDA 称为 follow-on biologics）不提供简化新药申请程序。生物药品制造商必须进行完整的临床试验，对申请的药品提供完整的生物药品许可申请。欧洲的情况有些不同，在那里这类被称为生物相似药物（bio-similar drugs）的简化申请是可行的，但是仍需进行一些临床研究。鉴于对该方面指导的需求，欧洲药品管理局出版了临床前和临床研究建议，比如对含有单克隆抗体的生物药品的指导²⁹。

3.4 生产

药品的生产和相关的质量控制需遵照药品生产质量管理规范（GMP）。GMP 应当确保原料药和药品按照质量和安全技术规范的要求进行生产。美国相关的法条是 CFR 210（一般要求）和 CFR 211（成品药）。原料药的 GMP 一般与 ICH 的 Q7 要求一致。GMP 涵盖以下过程：

- 制造、包装、销售
- 质量控制实验室
- 临床试验材料的生产
- 成品药和原料药（API）

GMP 的质量控制检测包括对原材料、中间体和成品药的检测，持续稳定性试验和持续溶出度试验。对生物药品质量控制的具体要求将在下一章说明。

3.5 对电子记录和电子签名的要求

1997 年，美国 FDA 发布了一个专门针对电子记录和电子签名的法规：CFR 21 第 11 部分。凡由电脑生成、评估、存档、检索和提交数据时，都应遵守该法规。它要求电子记录和电子签名与纸质版记录及签名同样可信，并将重点放在数据的准确性、真实性、完整性、安全性和数据的可用性上。该法规有达到这些目标的具体要求，包括：

- 电脑系统应当经过验证
- 记录的任何更改应当由系统自动记录，不受操作者干预
- 副本应当准确、完整，或保留原文的内容和意思。当电子记录被打印出来时这点尤为重要
- 电脑系统和数据的访问权限应受到流程和软件相关功能的控制
- 电脑应当记录使用者的身份

第 4 章

生物制药实验室的要求

生物制药实验室的要求

为确保只有安全有效的药物能够获准上市和放行出厂，必须保证生物制药实验室的检测数据准确可靠，这一点非常重要。因此，生物制品的研发和 QC 实验室必须符合 GxP 法规的要求以保证数据的质量。这些要求可以分为两类：

1. 质量体系的要求

适用于公司内的所有规范化活动，例如，文件控制、内部审核和人员资质审查。这些要求一般称作管理要求。

2. 实验室特殊要求

适用于实验室的特殊情况，例如，分析方法验证、取样、样品检测以及检测报告的审核和批准。

本章主要阐述生物制药实验室的 GxP 要求。看过本章以后，科学家和专业分析人员可能会认为大部分要求都是常识，没必要正式地确认其合规性。不过，在法规监管的行业里，仅仅知道怎样做，甚至按要求做了都是不够的。最重要的是将实施情况记录下来。检查员们通常会认为没有记录就是没做。

尽管所列出的要求原则上适用于研发和生产的所有阶段，但是从临床前研究到成品 QC 实验室，具体实施时要求应该越来越严格。比如，一期临床研究时，制定分析方法适合预期用途的说明文件可能就足够了。而在三期临床阶段，所有声明都必须有实验数据支持。

QC 实验室通过从大量重复生产的批次中抽样检测控制药品质量时，必须完全满足 CFR 第 210 和 211 部分的所有 GMP 要求。但在生产之前的各个阶段，这些要求并不都需要满足。例如，FDA 发布了“行业指南：一期临床研究新药的 CGMP”²⁷。该指南中同样有一章“生物制品和生物科技产品”。指南中描述的方法反映出这一事实，即用以控制相应产品质量的生产控制和质量控制的程度，不仅在研究阶段和商品化生

产阶段有所不同，在各期临床试验阶段也存在差异。举例来说，一期临床时，FDA 可能不要求所有分析仪器都按照 USP 通则<1058>²⁰ 的要求进行验证和供应商评价，但建议关注校准和系统适应性试验。指南中也没有提到之前的研究失败必须当作超标情况处理。

4.1 法规综述

图 5 中的总体样品/数据流程很好地阐释了法规对生物制药实验室的总体影响。图中靠上部分显示适用于规范实验室的一般质量保证要求，靠下部分为典型的实验室样品和检测数据流程以及关键要求，中间部分为适用于整个样品或数据流程的要求。

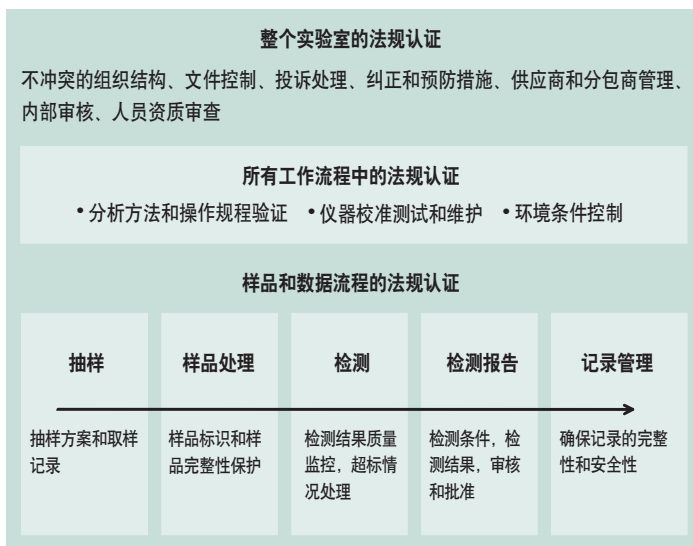


图 5
法规对生物制药实验室的要求

4.2 一般质量保证要求

生物制药实验室要求遵循受监管行业中普遍接受的质量保证规范。欧盟的药品 GMP 指南中很好地明确了质量保证的目的,即“所有规范的设定只为一个目的,确保药品达到与其预期用途相适应的质量水平”¹¹。

4.21 文件化

GxP 要求规范化文件从创建到销毁全程受控。受监管行业所用的不同类型文件如图 6 中的文件金字塔所示。

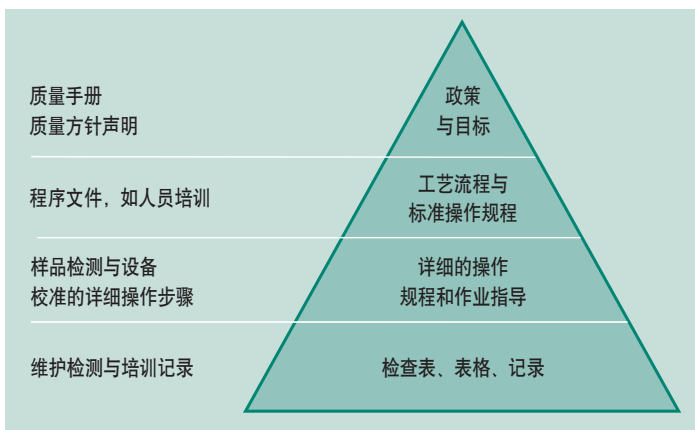


图 6
文件金字塔

政策性文件记录执行 GxP 的总体方针。质量手册或合规总体规划属于最高级别的文件。它阐述了如何达到质量目标的方法。其中还包括表明实验室愿意遵循 GxP 要求的质量方针声明。例如,质量方针声明可以这样写: *所有与受监管活动相关的人员必须具备与所承担任务相适应的资质,并保留资质审核验证记录。*

通过一个普通的程序说明如何达到不同的质量要求。本例中，说明了如何达到“人员必须具备与所承担任务相适应的资质”这一要求。

标准操作规程（SOP）或工作程序是针对如何准确执行某一特定任务（如校准某一特定仪器）而制定的逐步的详细操作说明。

记录是每天不断生成的，例如由产品检测产生的分析结果，或天平的校准记录等。

必须对所有的文件进行适当的控制。例如，文件的起草、审核、批准和分发均应按照文件化的程序进行，文件的变更必须经过批准并保留记录，更新后的文件应有新的版本号或代码。

4.22 组织结构与职责

GxP 要求有一定的组织安排，避免部门间的利益冲突对数据的质量及合规性带来不利影响。例如，财务部和质量保证部的运行应独立于实验室的活动。

检查员们通常要看组织结构图。应明确管理层和员工的职责并进行年度审核。质量保证部应负责法规认证体系的建立。而该体系的实施和维护则是每位经理、主管和员工的职责。工作描述、工作申请、简历和年度审核文件的副本应保存在人力资源和 QA 部门的档案中。

4.23 人员资质审查

影响数据准确性和可靠性的最重要的因素是雇佣、培训和管理合格的员工。姑且不论实验室里所有复杂的设备和验证过的方法，如果员工没有足够的资质和积极性去从事实验室的工作，就不可能得到稳定可

靠的数据。在 FDA 的检查和警告信中，员工缺乏培训或培训不足是最常见的问题，而所有 GxP 法规都要求在规范化环境下工作的员工必须具备与其承担的任务相适应的资质。可以根据其教育背景、工作经验或培训经历进行资质验证。要点包括：

- 每位员工都应有一份工作描述，其中包含所分配的工作任务。检查员希望得到员工资质与其工作任务相适应的证明性文件。这可以是一份个人档案，包含教育背景、以前的工作经历、培训证书等信息
- 如果没有足够的证明文件表明该员工具备相应资质，主管可以和员工一起制定一份培训计划以弥补这一缺陷
- 一旦完成培训，应签发一份证书或其他相应的文件给这位员工，证明其参加了培训且培训有效。在实验室里，可以通过完成已知量样品的检测来证明分析人员的培训有效性。如果受培训员工得到的结果与目标值一致，则表明其培训是成功的
- 培训必须由具有资质的培训方提供。应保留提供培训的公司和/或培训老师的资质文件
- 培训内容不仅应覆盖所有的操作任务，还应包括 GxP 法规
- 培训是一项长期的工作
- 应将培训作为常规质量审核的一部分，以证实培训计划和培训程序得到了很好的实施。同时还应证实作为培训程序一部分的模板和检查表得到了充分的应用

4.24 设施和环境

实验室应建立相应的程序，确保其设施和环境条件不会对样品处理、仪器使用、仪器校准和验证以及产品检测产生不良影响。该程序应保证：

- 实验室配备空调和通风设备，并且保证实验室设施满足所要求的环境条件，如温湿度条件等，符合仪器厂商的规定，并达到样品处理的要求
- 实验室的地面选择耐化学腐蚀并且易于清洗的材料
- 工作台选择易于清洗和防化学渗漏的材料
- 实验室应配备化学通风橱，以排除分析过程中使用或产生的有害物质，保护员工不因空气中有毒物质达到有害浓度而影响健康
- 在适当的地方配备辅助的发电系统，为危险或敏感的工作提供紧急电源
- 实验室有能够正确存储样品、标准物质和试剂的贮藏区
- 实验室内还应有足够大的贮藏区，确保玻璃制品和便携式仪器得到合适的存放
- 为不相容的活动提供有效隔离，并采取措施防止交叉污染
- 实验区域与建筑物内的其他部分如行政管理部门、餐厅和会议室等分开
- 满足其他特定分析条件所要求的实验室条件，包括危险生物和化学物质的要求
- 定期对实验室进行清洁和维护
- 实验室主管负责实验室环境控制计划的实施

- 当环境条件不满足时，主管应安排测试，看是否产生不良影响。如果监控显示环境条件不符合要求，应立即停止分析活动
- 实验室的员工在规定区域内从事实验室的计划和各项工作
- 实验室员工应识别取样和分析过程中哪些环境需要控制，并提出建议，确保这些因素不对检测结果产生不良影响
- 实验室员工应正确处置和存储危险废弃物，并制定危险废弃物处置计划

4.25 内部审核

内部审核在任何质量体系中都是关键要素。其目的是对实验室的活动和现有文件及记录进行评价，检查它们是否符合预先确定的内部和/或外部标准和/或法规或客户的要求。除了检查与内部和外部标准的符合性外，内部审核和外部审核还有其他一些重要作用：它们有助于改进流程，建立起对实验室老板、员工和客户更有利且更好的管理体系。

通常，实验室一次并不审核所有要素。但是，在某一个时间段内，实验室所有要素必须全部检查一遍。因此，必须有一个长期的审核计划。目的在于在计划的整个时段内，所有部门和要素必须得到审核。可以根据当前的趋势和监管的焦点来确定审核的重点。

有两种方式可以达到全面覆盖：横向审核和纵向审核。横向审核时，在某一特定的时间就同一要素（例如组织、分析方法或设备）对所有部门进行仔细审核。在下一个审核时间里，对其他要素进行检查。而纵向审核方式是一次对全部要素或选定的部分要素进行审核。实际上，很多实验室并不在同一时间内进行审核，而是按照一个审核日程一个接一个地审核。

4.3 与产品检测相关的特殊质量要求 4.31 抽样

GxP 规定必须按抽样方案进行取样，并且应记录所有的样品信息。测试样品的采集必须遵照事先制定的文件化程序进行。检查员会要求检查取样系统的说明，包括如何实施取样、谁来取样，如果需要，在取样地点还应有 SOP。其他要求有：

- 必要时，应使用无菌设备和无菌取样技术
- 样品应能代表每个批次
- 抽样方案应尽可能建立在合理且适当的统计方法基础上
- 在取样和样品转运与存储过程中应避免样品与样品间的交叉污染
- 在抽取生物药品时，应特别小心，以避免生产线被取样过程污染
- 样品应有唯一性标识，并且在转运和存储过程中应保证样品的完整性
- 应保存抽样记录，包括所用的取样程序、位置、取样人员的标识、取样设备和有关的环境条件
- GMP 法规中有一条特别的规定，要求保存足够的留样。目的在于当产品检测和结果不符合规定时应能提供留样。当结果观测失败时，还可以用这些留样进行复测

4.32 检测物品的处置

实验室应确保样品从取样直至清理均保持正确的标识并受到保护。

应有用于样品的接收、保护、存储、处理、保留和清理的程序。程序中应有防止样品在运输、处置和存储过程中发生退化、丢失或损坏的条款。当样品需要被存放在特殊的环境条件下时，应对该环境条件进行监控。应制定程序保证样品得到适当的处置。程序应确保：

- 每个样品使用样品编号或代码进行唯一性标识。从样品采集直到分析结束，可用该编号对样品进行追踪。样品编号还可为样品和检测结果建立可追溯性
- 样品到达实验室时，应检查其外观性状，并记录不正常的情况或其他特殊的观察结果。将样品情况与之前确定的条件相比，如果存在差异，实验室应询问部门经理该样品从何处得来。询问后再决定是否进行测试或重新采样
- 应确定并遵从不同样品的处理程序
- 保存能够代表每个发运批号的适量留样，并正确标识
- 留样应为正常检验量（即足够进行确定产品符合既有标准的样品量）的 1.5 倍以上
- 留样应保存在与上市药品相同的即时密封系统中，或与上市药品保持相同的贮存条件

4.33 检测

每一次单项检测及连续检测均应按照文件化的程序进行。该程序应确保：

- 使用适合预期用途的检测方法
- 使用经验证的检测设备
- 由具备资质的人员实施检测
- 在测试第一份样品前，应对系统进行校准，并且在连续运行期间应进行足够的校准
- 应进行充分的系统适应性试验
- 对每一个检测项目均应确定验收标准
- 按照既定方案记录检测结果
- 记录的检测过程和参数应包含足够的信息，根据记录能使样品测试和数据评价得以复现
- 应对检测结果的质量加以监控

4.34 不合格检测结果的处理

FDA 要求当观测到不合格结果（OOS）时，应展开调查。调查包括从活性药物成分、原料的生产到最终产品的检测，以及对 GMP 法规要求的遵循程度。其中还包括稳定性试验。OOS 指结果超出了新药申请、生物制品许可申请、药典或制造商制定的标准限度。如果发现 OOS，应立即启动失败原因调查。实验室应制定不合格结果处理和失败原因调查的 SOP。

4.35 数据验证和结果报告

检测数据应由检验者签名，并由第二人审核和批准。审核人可以是检验者的主管或 QA 成员。检测结果的审核和报告应有 SOP，确保：

- 产生分析数据的检验者对数据的正确性和完整性负有首要责任
- 检验者负责将与每批样品的数据解释和验证相关的所有原始数据打包。数据包通常包括：定量分析报告、仪器参数表和支持性图谱（如色谱图和光谱图）
- 数据包必须由第二人审核和批准

所需审核的信息取决于检测类型。对于色谱试验，通常包括以下内容：

- 检测结果与文件化技术指标的符合性
- 取样和检测方法的信息
- 化合物名称和浓度信息
- 报告标题的完整性

- 从事检测人员的签名或首字母缩写，以及检测日期
- 支持性材料的完整性，如色谱图
- 校准和保留时间窗的判断标准
- 正确地记录手动积分结果
- 有关检测方法变更的完整记录
- 与检测有关的所有计算，包括测量单位、转换因子和当量因子
- 质量控制或系统适应性数据
- 特殊情况的记录

4.36 试剂和试液

为确保用于 GxP 研究的试剂和试液的长期质量，其购买和检测应按照质量保证计划进行。还应包括对供应商资质的审核。

实验区域的所有试剂和试液均应标明成分、滴定度或浓度、贮存条件以及有效期。不能使用变质或过期的试剂和试液。

试剂和试液的有效期取决于其化学性质。氯化钠事实上没有失效期。这种情况下，可以在有效期栏内标注“NONE（无）”或“N/A（不适用）”。实验室必须准备好证明所指定有效期的合理性，但并不要求为证明有效期做正式的研究，可以根据供应商提供的信息、参考文献和/或实验室的经验加以确定。

4.37 （有证）标准物质

每个实验室都应制定参考物质和标准品的质量保证计划，作为公司或实验室质量计划的一部分。

该计划中应包含以下步骤：

- 供应商的资质审核。强烈推荐 ISO 9001 证书或通过其他等效标准认证的证书，否则要求进行直接审计
- 来料验收的频次和方式。验收可以是对标识和数量的查验
- 将材料录入数据库
- 材料的处置和保存
- 由购进的原料制备内部标准物质（IRM）和工作对照品
- 进行标记，包括有效期、贮存条件、毒性等
- 材料的定期检查，如纯度和数量等。参考标准、一级标准物质和工作标准物质应按规定的程序进行期间核查
- 不满足验收标准时应采取的措施
- 如果标准物质是由同一公司内的其他实验室配制和提供的，需要进行入库验收（也要求做一些检查）
- 材料使用后的处置

生物药品检测所用的标准物质一般在市场上无法买到。ICH Q6B 建议，在这种情况下，应从具有代表性的产品和临床研究用品中制备合格的内部一级标准物质，并用该一级标准对内部工作标准物质进行校准。

4.38 记录的保存和检索

GxP 有一些段落提供了关于如何保存和检索记录及数据的详细内容,例如哪些记录应归档,以及保存时间等。

必须归档的文件包括从原始数据到最终结果的全部材料,还包括与研究的完整性和真实性有关的会议决议及会议纪要等。

GLP 要求指定一位档案管理员,可以是兼职,也可以是专职负责档案管理的人员。一些公司有这样的程序,要求必须由档案管理员登记或确定后方可借阅档案中的文件。只要文件从档案中取出,就必须加以记录,要求借阅的人员必须签署不得变更、增加或删除的声明。

GLP 还规定了记录和样本的保存期限。比如,在美国,提交 FDA 的支持性材料必须保存至:

- FDA 批准后 2 年, 或
- FDA 提交后 5 年

然后,这仅仅是美国 FDA 的保存期限要求,其他国家的要求可能有所不同。2 年或 5 年看起来并不长。其实, FDA 批准后 2 年或 FDA 提交后 5 年可能会很长。因为有时候,从进行 GLP 研究到获得 FDA 批准上市可能需要 10 年或更久。

QC 试验的保存期限较短。按照大多数 GMP 法规的要求,一般为保存至药品有效期后一年,通常也就是 6-7 年。

4.39 设备

GxP 要求产生、测量和评价分析数据的仪器应适合其预期用途。这意味着仪器应有良好的设计，并经过验证、校准或核查，以确保其满足预先确定的技术指标。与其他事情一样，在这个方面，不同的组织对同样的任务采用不同的术语。我们以检查 HPLC 性能指标的精密度为例。这在业内通常被称作设备验证 (equipment qualification)。FDA 的术语中称为设备校准 (equipment calibration)，而检查员们要求查看设备验证方案 (equipment qualification protocols)。另一方面，USP 称其为仪器验证 (instrument qualification)。本手册中采用 USP 的术语，因为自通则 <1058> 发布以来，这个说法已经在行业中普遍应用。

分析仪器的标准验证过程在 USP 通则“分析仪器验证”²⁰ 中已有明确规定。该通则并非针对生物制药实验室制定，但其中的理念可以相应予以采用。本小节中将简单介绍一下 USP 的验证和维护程序。更多更详细的信息请参见安捷伦科技公司的入门手册——分析仪器验证及系统验证⁵。

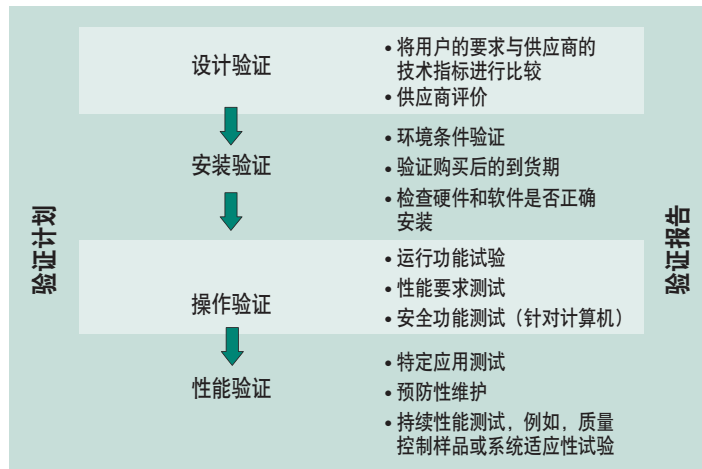


图 7
分析仪器验证的 4Q 模型

4.39.1 按照 USP 进行分析仪器验证

设备验证和计算机系统验证涉及设备或系统的整个生命周期，从对某个特定产品产生需求开始，到设备退役为止。由于时间跨度长，过程复杂，整个程序可以根据设备的生命周期分为几个小阶段。验证和验证用到的生命周期模型有几种。USP 的 4Q 模型在药品实验室中广泛应用。整个过程如图 7 所示。

完整的验证过程分为四个阶段：设计验证 (DQ)、安装验证 (IQ)、运行验证 (OQ) 和性能验证 (PQ)。针对特定的项目，制定包括整个过程的验证计划，得到的结果形成验证报告。

在 DQ 阶段，用户写出设备的技术要求，包括设备应具有的所有功能，以及日后的应用所要求达到的性能指标。然后，用户将所写的技术要求与供应商的技术参数表进行比较。只要供应商的技术参数达到或优于用户的需求，设备的设计就能满足预期的用途。

在 DQ 阶段，还包括一个正式的供应商评价，评价可以基于以往与供应商接触的经验，或通过邮件审核或直接审核进行。

仪器购进后，在实验室完成安装。在 IQ 阶段，将货物与购买合同进行比较，以验证其完整性，同时对照供应商的安装说明检查安装情况。其中包括检查实验室是否符合供应商的环境要求，如湿度和温度等。在安装过程结束时，应填写一份 IQ 草案，包括供应商、型号、序列号及其他相关信息。

IQ 阶段结束以后，针对性能要求文件中已确定的功能和性能指标，对仪器进行测试。这类 OQ 测试可以由供应商的业务代表来做，也可以用户自己做。无论哪种情况，用户代表都必须签署 OQ 文件。仪器的 OQ 应按一定的间隔重复进行。

重新验证的频次取决于仪器本身的状况、仪器生产商的建议、实验室的经验，以及使用的程度。例如，pH 计可以在每次使用前校正，而 HPLC

可变波长检测器的波长可以每个月校正一次，也可以在更换吸收池时校正。通常，整套色谱仪的 OQ 性能测试每 6-12 个月必须做一次。

同时，在 OQ 间期，应对仪器性能进行日常检查，或是每次使用仪器时进行检查。这类 PQ 测试与应用类型有关，并且应当注重那些最为重要且最可能随时间变化的性能参数，如液相色谱中的色谱柱性能和紫外检测器基线噪声。相应的测试可以与 USP 所要求的系统适应性试验 (SST) 合并进行，以验证系统性能符合某种特定应用的要求。

4.39.2 软件和计算机系统的验证

在 GxP 规范化环境下的软件和计算机系统必须经过验证。验证方法与设备验证类似。主要的区别在于：

- 必须更加关注供应商的资质验证。供应商应提供文件化的证据，证明软件是按照文件化的程序进行开发的，并且按该程序的要求进行了验证
- 在对硬件设备进行验证时，要求在用户的环境下对所有的技术指标进行验证，而对于软件没有这样的要求，只需要验证其中一小部分关键的软件功能，并执行完整的系统测试
- 很多时候，用户会对计算机系统定制，例如，通过报告生成器或进行网络设置。用户应将这些配置纳入技术要求文件中，并验证这些功能是否正常

更多有关软件和实验室计算机系统验证的信息和例子请参见参考文献 5。

4.39.3 设备记录和其他文件

所有的检查、维护、测试、校正和/或验证/认证过程均需要保留书面记录。这些记录，包括实施日期，应表明所做的维护操作是否符合 SOP 文件。

应对设备故障的维修进行书面记录。这类记录应包含故障的类型、故障怎样被发现、发现的时间，以及针对故障所采取的所有补救措施。补救措施包括对故障发现前产生的数据是否受故障影响进行回顾性检查。所有这些记录应写入设备的日志本。日志本与设备产生的分析数据保存相同长的时间。

4.39.4 (预防性) 维护

为确保持久的正常功能，应对分析仪器进行正确的维护。维护规程应放在设备现场，以对硬件进行常规的预防性维护，从而在对分析结果产生负面影响之前检测和修复故障。维护规程应包括以下内容：

- 何时维护
- 如何维护
- 维护后应做哪些验证。例如，仪器维护后一般应做一个 PQ 测试
- 如何记录维护活动

计划性的维护活动应按照文件化的仪器维护计划进行。一些供应商提供按一定的时间间隔进行预防性维护服务的维护合同。执行一整套的诊断程序并更换重要的部件，确保系统持续可靠地运行。

除计划性的维护活动外，仪器的使用者或管理者还可以正式提出计划外的维护要求。必须写明要求维护的原因及重要性。所有的维护活动应记录在仪器的日志本中。

4.39.5 有缺陷和不合格仪器的处理

有缺陷和不合格的仪器应从实验室区域撤出，或加以明确标识表明其缺陷或不适用。应有适用于大部分常见问题的可行的处理程序，如紫外检测器的灯有问题。程序中还应包含要求采用哪种类型的重新验证的信息。不常见的问题，如 HPLC 泵无任何明显原因发生故障，应通过一个专门的程序进行处理，该程序应指导仪器使用者进行维修处理和重新安装。在这种情况下，应评估故障是否对之前的数据产生影响。

4.40 分析方法验证

GxP 要求对分析方法进行验证，以证明其适合预期用途。所有用于检查药物质量、有效性和安全性的方法均需验证。由于在生物制品纯化工艺中设备清洁极其重要，用于验证清洁有效性的方法也应得到彻底验证。方法验证程序的最终目的是提供证据，证明方法满足预期用途，并且具有准确性、可靠性和重现性。

监管机构和其他官方组织制定了一些有关分析方法验证的文件。例如，FDA 出版了指导性草案《分析流程和方法验证》⁷ 以及《生物分析方法验证》指南⁸。USP 中有一章“法定方法的验证”。分析方法验证的参考文件还有 ICH Q2(R1) 指南“分析流程的验证：定义和方法”。所有这些官方的方法验证文件都是针对小分子化合物的分析制定的。从 FDA 指南“生物分析方法验证”的标题看，似乎适用于生物技术产品的方法验证。其实，它的推荐适用范围是临床前和临床研究中血液等生物体液的分析。该指南中的理念不能用于生物药品的质量控制。

目前看来还没有用于生物药品表征分析方法验证的官方指南，并且近期也不可能有这样的指南问世。事实上，与一些分子量相对较小的肽类相比，对生物药品进行完全的表征也是几乎不可能实现的。Swartz

和 Krull³⁰ 详细讨论了 this 观点。他们认为现有的验证指南用于生物药品的方法验证时存在局限性。例如，无法提供准确度测定时所需的对照品，也就不可能对杂质进行定量分析。另外，即使使用当今基于联用技术的最为复杂的仪器设备，也不可能对所有的蛋白质进行分离。FDA 看来已经接受了这些局限性，不再期望得到像小分子药物一样明确的验证结果。ICH 的协议要求可能也将接受这种无法避免的缺陷，并认为其是合理的。

不过，行业内都采用 ICH Q2 指南作为参考，并尽可能达到其要求。本小节简要介绍一下如何按照这个指南的要求进行方法验证。更多详细信息请参见安捷伦的入门手册“分析方法验证”⁶。其中包含了 ICH Q2 要求的所有验证特性的定义和详细的测试参数。

4.40.1 不同分析任务的 ICH 验证参数

ICH Q2 指明了验证参数，并提出了有关验证方法的建议。验证参数表如图 8 所示。稳健性未列入该表，但 ICH 希望在方法开发时对其进行测试。FDA 和其他机构则希望方法验证资料中包含有关稳健性的测试记录。

ICH 的理念是并非任何时候都需要对图 8 中的所有分析参数进行验证。例如，如果方法用于痕量水平的定性分析，就不需要对设备的整个动态范围内的方法定量限或线性进行测试和验证。验证的程度还取决于药物的研发阶段。监管机构通常希望在三期临床和生产质量控制时进行完整的方法验证，而在临床前研究和一期临床研究阶段，一些最耗时的试验通常不必进行，如中间精密度、重现性和耐用性等。不过，必须作出声明，即制造商验证该方法适合于预期用途。

ICH Q2 规定，必须根据监管要求选择和确定验证参数和验收标准，证明其合理性，并且形成文件。

ICH 明确四种类型的分析过程必须加以验证：

- 鉴定试验
- 杂质定量检测
- 控制性杂质的限度检测
- 药物中活性成分或其他主要成分的定量检测

如果是鉴定试验，不要求验证准确度、任何形式的精密度，以及检测限和定量限。主成分或活性成分的含量测量通常是在高浓度下的检测，因此，没必要验证检测限和定量限。而对于杂质的定量检测，必须验证除检测限外的所有参数。限度检查则只需要验证特异性和检测限。

分析任务	鉴定	杂质检查		主要成分含量测定
		定量	限度试验	
准确度	否	是	否	是
精密度				
重复性	否	是	否	是
中间精密度	否	是	否	是
重现性	否	是	否	是
特异性	是	是	是	是
检测限	否	否	是	否
定量限	否	是	否	否
线性	否	是	否	是
范围	否	是	否	是

图 8

ICH 验证参数（术语和方法的详细描述参见文献 7）

4.40.2 方法验证策略

应用样品或与常规分析样品接近的标准物质，在实验室里通过实验对特定方法的有效性进行验证。样品的制备和验证实验的实施应遵循某个验证方案，最好是包含详细的逐步操作步骤的书面方案。

与设备验证和计算机系统验证相仿，方法验证也不是一个一次性事件，它从某人希望在实验室里实施某一新方法开始，直到该方法不再应用为止。考虑到这一过程的时间跨度和复杂性，将其分为几个阶段，如图9所示。

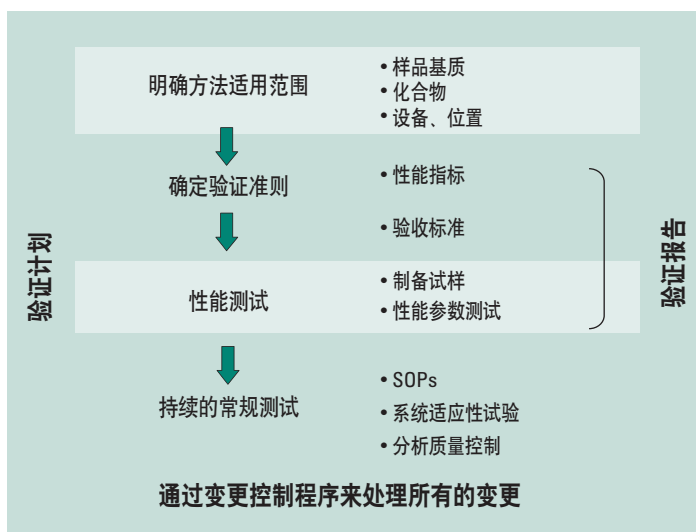


图9
方法验证过程

第一步，制定一个包括责任人、职责和交付成果在内的验证计划。接下来，确定方法的适用范围，包括化合物和浓度范围、样品基质、用于样品分析的专用设备和分析场所。一旦我们知道了分析对象，就能确定性能参数、性能测试和验收标准。随后，制定一个包含试验详细步骤的试验方案，并按此方案实施检测。试验结果与验收标准比较。最后，制定常规应用该方法的标准操作程序，其中包含每次分析时系统持续性能的验证程序。验证程序可以是系统适应性试验，也可以是对质量控制样品的分析。所有实验条件和验证结果应记录在验证报告中。

4.40.3 法定方法的验证

在规范化环境下工作的实验室建议应用官方发布的方法，这些方法是由美国测试和材料协会（ASTM）或 USP 等获得承认的组织制定和验证的。例如，美国食品、药品和化妆品法案要求 FDA 监管行业应用法定方法或证明等效的方法。这些方法经过验证，因此，许多分析人员都认为这些方法无需在实验室做进一步的验证、证实或试验。这是一个错误的想法。FDA 的 GMP 法规在 21 CFR 211:194 a 中有如下声明：“如果应用的方法是美国药典的现行有效版本，或承认的其他参考标准，或是已批准的新药申请中的方法，且方法未发生变更，有方法和参考文献的声明即已足够。所有检测方法的适应性应在实际使用条件下加以验证。”

这表明官方的方法如果没有发生变更，无需进行验证，但实验室应证明其有能力成功运用该方法。问题是如何去做，是否需要重复所有的验证试验，还是仅有满意的系统适应性试验或质控样品分析即可？

USP 通则<1226>“法定方法的验证”中给出了答案²¹，其中的建议不仅有助于法定方法的实施，也适用于其他方法。

重要的建议有：

- 通过系统适应性试验证明实验室和系统的性能
- 评估方法的困难性和复杂性
- 选择方法中最苛刻的性能指标
- 根据方法的困难性和复杂性，重复 1~3 个最重要的验证试验

与自行制定方法的验证一样，标准方法的评估和验证也需要一个文件化的程序，如验证计划或 SOP。应保存验证结果。

4.40.4 分析方法的转移

在实验室间转移分析方法时，接收实验室应证明其能够成功运用该方法。典型的方法转移情况有：从研发（R&D）实验室转到质控（QC）实验室，生产线搬迁后从 A 场所转移到 B 场所，从主办单位转到合同实验室，以及当另一个公司购买产品后从 X 公司转到 Y 公司。目前，没有可以作为接收实验室的性能证明试验指导的官方文件。最有希望的是 USP 的 H. Pappa 领导下的 USP 通则专业委员会发表的一篇建议性文章，标题为“分析方法的转移——建议作为一个新的通则”²³。

重要的建议有：

- 转出实验室确定一个或几个性质明确的样品，制定包含方法参数和验收标准的文件，如方法的准确度。样品应涵盖最初进行方法验证时验证指定的所有样品范围
- 接收实验室对样品进行分析，并将结果与验收标准进行比较
- 根据分析的困难程度和方法的复杂性，重复 1~2 项验证试验，如杂质定量分析的定量限

方法转移必须遵循文件化的程序，如转移计划或 SOP。

第 5 章

生物药品的质量控制

生物药品的质量控制

和所有其他药品一样，生物药品的原料药和终产品也必须进行严格的质量控制，以确保其符合预先制定的质量标准。必须对产品的身份、杂质、含量（如蛋白质含量）和稳定性进行检测，保证生物药品的安全性和有效性。全面的质量控制也是所有 GMP 法规的要求，是监管检查的重点。

生物制药 QC 实验室需遵从的质量保证原则与上一章列出的相同。例如，ICH Q6B 要求对分析方法进行验证，并且必须在质量控制中使用商品化或自制的标准物质。由生物技术生产的产品与传统产品一样接受相同的 GMP 监管。考虑到生物药品的特殊性，必要时，还制定了一些特别的法规和指南性文件，例如 FDA 的 21 CFR 610 和 ICH Q6B¹²。

传统药品与生物药品 QC 的最根本区别在于两者用于测定产品特性（身份、效价、纯度和杂质谱）的方法不同。这是因为两者的产品性质截然不同。

由于其高度的复杂性，生物技术产品的分析过程更为复杂。蛋白质分子的分子量比传统药物大 2~3 个数量级。原料药来源于活体细胞，通常含有一系列复杂的产品和工艺相关杂质。另外，蛋白质还经过复杂的翻译后修饰，有高特异性的三维或四维结构，可能发生聚集和/或吸附作用。

传统的制药 QC 实验室使用相对简单的常规仪器，如带可变波长 UV 检测器的 HPLC，与之相反，生物制药 QC 实验室用的设备较为复杂，在传统制药行业，只有实验室的研发部门才用到这些设备。

本章将对以下内容进行概述：

- ICH Q6B 对产品表征的建议
- 生物制药 QC 实验室使用的分析技术
- 技术指标和验收标准

5.1 ICH Q6B 指南——概述

一份全面的特征描述文件对于生物制品的质量控制非常重要。它可以帮助制定技术指标和验收标准。ICH Q6B 告诉我们如何制定这类文件，还包含如何制定合理的技术指标的建议。另外，指南中还讨论了分析检测的注意事项。该指南应用于蛋白质和肽类及其衍生物，以及含此类组分的其他产品。尽管该指南的适用范围是由重组细胞培养表达系统得到的蛋白质，但其中列出的原则也适用于其他类型的产品，如从组织和体液中分离得到的蛋白质和多肽。指南中列出了一些检测选项，但并未给出特别的建议。

该指南建议通过理化性质、生物活性、免疫化学活性、纯度和含量来表征产品。

5.11 理化参数

理化参数包括一级结构、组成和理化性质的测定。一级结构的信息可以结合肽图、C-端和 N-端序列、氨基酸组成和序列等一系列结果来确定。蛋白质的高级结构也很重要，因为它们对药品的活性有显著影响。高级结构的数据可以通过光谱方法获得，如圆二色光谱（CD）和核磁共振（NMR）。还应采集其他理化特性数据，如分子量或分子大小、异构类型、消光系数和电泳图谱。鉴别、同质性和纯度的数据也可以通过多种液相色谱法、质谱或液质联用等技术进行采集。

5.12 生物活性

生物活性的测定很重要，因为它决定了药物的治疗效果。生物活性的数据给出了功能信息，同时还间接地给出正确的蛋白质折叠信息。用于测定生物活性的方法包括基于动物的生物测定法、细胞培养测定法和生物化学测定法。生物测定的结果应当表达成活力单位，并用商品

化或自制标准物质为对照进行校正。特殊情况下，也可以用理化试验代替生物测定法进行生物活性的检测。这种情况下，结果应表达为质量单位。

5.13 免疫化学性质

如果预期产品为抗体，则应完整地表征其免疫化学性质。应通过与纯抗原和特定种类抗原的抗体结合试验来测定抗体的亲合力、活力和免疫活性。蛋白质的免疫化学性质可用于确定其身份、同质性或纯度。

5.14 含量

产品中蛋白质的含量通常用紫外分光光度法测定。紫外吸收法最适用于纯度极高的蛋白质，因为其他蛋白质的存在可能干扰检测结果。测定最大吸收波长处的吸收值，再根据经验的消光系数计算蛋白质含量。

5.15 杂质

蛋白质类药品中的杂质可以分为两类：产品相关的杂质和工艺相关的杂质。工艺相关杂质由细胞、细胞培养基或纯化过程产生。这类杂质有宿主细胞的 DNA、蛋白质、细胞培养基组分（如生长激素），以及下游工艺或是纯化工艺本身可能用到的物质等（如酶、化学和生化过程中使用的试剂、无机盐、配体和其他浸出物）。

产品相关杂质为氧化、异构化等修饰产生的杂质，以及脱酰胺基、聚合和截断等翻译后修饰产生的杂质。

5.2 分析方法

ICH Q6B 列出了可以用于结构确证和理化性质分析的方法,还列出了潜在的杂质、杂质来源及相关分析方法。指南中声明所列举分析方法并非推荐方法,适当时也可以应用在现有技术基础上不断开发的新分析技术和新方法。

由于该指南早在 1999 年即发布,这些年来,分析技术已经有了很大的提高。例如, Krull 和 Rathore 在 2010 年对《生物技术产品和工艺表征分析工具》(Analytical Tools for Characterization of Biotechnology Products and Processes)一书进行了改版²²。最为引人注目的是超高效液相色谱法(UHPLC)作为一种快速分析方法取代了标准 HPLC,沉降速度分析型超高速离心(SV-AUC)取代分子排阻色谱法(SEC)对蛋白质中低水平的聚集体进行定量分析,以及 UHPLC-电喷雾离子化(ESI)-MS-MS 和分子排阻色谱-多角度激光散射(SEC-MALS)等联用技术的常规应用。

有复杂的软件和数据库用于结果的解析和校验。例如,可以通过比较实际 NMR 图谱与 Glycan 数据库中的图谱来确定糖类化合物的结构²⁸。自动化样品制备工具极大地提高了样品通量。Rathore²⁴列举了一系列使用先进技术提高分析性能和速度的例子。例如,通过自动液体处理、自动进样和快速分离 HPLC(RR-HPLC)的联合应用,他能够把 N-连接寡糖的糖图测定通量由 5 天 1 个样品提高到 24 小时 30 个样品。

仪器供应商推出了一些惰性系统,可防止蛋白质的吸附,也可以在很宽的 pH 范围和较高的盐浓度下运行。例如,安捷伦科技公司开发了一套生物惰性 HPLC 系统,泵是钛制成的,不含不锈钢,自动进样器、检测器流通池、毛细管及接头都不含金属。生物惰性 HPLC 系统得到的肽图见图 10。肽图分析是一种特异性很好的鉴定方法,可以将某一批产品的蛋白质结构与标准品或之前批号的产品进行比较,作为检验批与批之间一致性的工具。

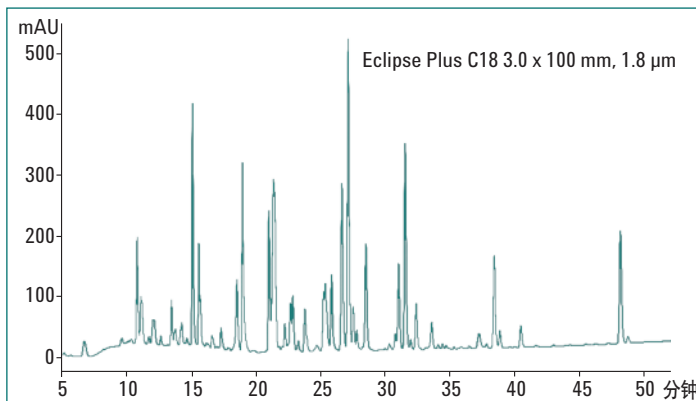


图 10
用生物惰性 HPLC 系统得到的肽图

方法	分析步骤
氨基酸序列	自动 Edman 化学降解/HPLC 或 MS/MS
氨基酸组成	水解 + 反相 HPLC+ 柱后衍生化
N-端序列	自动 Edman 化学降解和 HPLC 分析
C-端序列	肽图与 ES-MS/MS 联用, 酶消化和/或分子量分析的组合作用
肽图	选择性的酶消化或化学降解, 并用 UHPLC、HPLC 或 LC/MS 分析降解产物
双硫桥	肽图分析、用合适的酶消化并用 LC-ES/MS 分析
碳水化合物结构	应用 GC-MS 分析寡糖的组成, 应用 NMR 与已知图谱比较分析寡糖的类型

图 11
结构表征和验证的分析方法及仪器

尽管分析仪器已经有了很大的进步，仍然无法对所有生物技术药品进行完全的表征。因此，FDA 和生物制药行业没有使用“完全表征的生物药物 (Fully Characterized Biological Drugs)”这样的术语，而是代之以“良好表征的生物药品 (Well Characterized Biological Drugs, WCBD)”。

图 11 列出了用于结构表征的分析方法。表中包括 ICH Q6B 中的方法以及一些新技术。哪种技术方法最佳因产品而异。

图 12 列出了检测原料药和药品理化参数的分析步骤。

理化性质	分析步骤
分子量或分子大小	分子排阻色谱法, SDS-PAGE, 质谱法, 沉降速度分析型超高速离心
异构类型	等电聚焦, 离子交换色谱法, HPLC, SDS-PAGE
消光系数	紫外-可见分光光度法 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (Maldi-TOF MS)
电泳图谱 (以及药物身份、同质性和纯度数据)	等电聚焦, SDS-PAGE, 蛋白质印迹, 毛细管电泳
液相色谱图 (以及药物身份、同质性和纯度数据)	分子排阻色谱法, HPLC, 离子交换色谱法, 亲和色谱法
光谱图	紫外-可见光谱 用于高级结构测定的圆二色光谱和 NMR

图 12
理化性质检测的分析步骤

5.3 常规质量控制的技术指标

ICH Q6B 对技术指标 (specifications) 的定义是“检测项目、检测方法以及合适的验收标准 (包括限度值、范围或试验的判断指标)”。所有 GMP 法规均要求在药品的上市期间设定、保持并控制技术指标。不仅原料药和成品需要设定技术指标, 原料、辅料、过程检测和稳定性检测都需要有相应的技术指标。药品技术指标的设定, 其最终目的是保护病人, 避免摄入不适用的药品。技术指标应由药品制造商设定, 并且证明其合理性。

ICH Q6B 阐述了设定技术指标和验收标准的方法, 但并没有给出验收标准的准确数量或范围。它们因产品而异, 必须由制造商制定。确定验收标准的过程必须遵循一定的文件化程序, 该程序最好包括有决策树的流程图。Q6A 有 8 个适用于不同情况的决策树²⁵。尽管 Q6A 并非专门针对生物药品制定的, 但其理念可以移植到生物药品中。图 13 中给出了一个这样的例子。

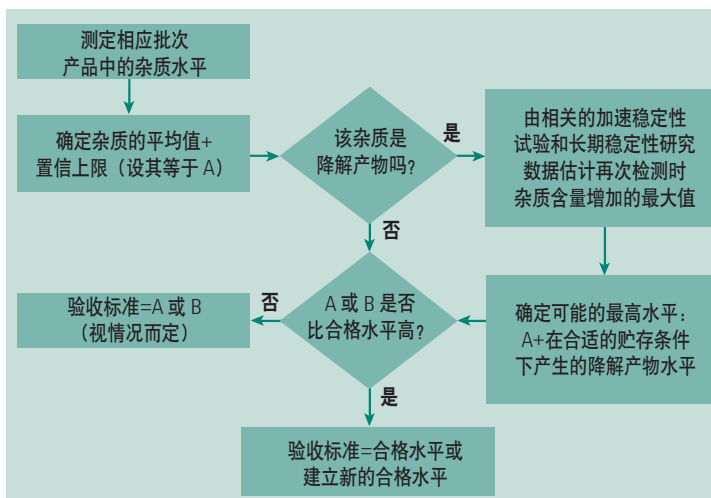


图 13
设定药品杂质技术指标的案例分析 (来自参考文献 25)

5.31 得到技术指标所需的信息

技术指标和验收标准应该与下列数据有关：

- 从临床前和临床研究中收集到的经验数据和安全性数据。如果没有很好的数据，尤其是与病人使用的药效有关的数据，效价的安全性指标将会毫无意义
- 允许的日摄取药物量（通常用 mg/day 表示）。例如，允许日摄取量较高的药物，其杂质指标应设得低一些
- 给药的持续时间。例如，长期给予的药物（如控制血压的药物），其杂质指标应设得低一些
- 从生产的各批次临床前和临床研究用药物中获得的数据
- 从具有代表性的工艺条件下生产的足够批次产品中获得的用于证明生产过程全面一致性的数据
- 分析方法验证时采集的数据
- 稳定性试验时采集的数据。出厂检验的技术指标可能与储存期的技术指标有差异。出厂限度是根据稳定性研究结果，并预测产品在整个储存期内都符合使用要求而制定的内部标准或注册标准。失效期是根据稳定性试验并预测何时产品不再适合使用而确定的技术指标。稳定性试验应按照 ICH Q5C 的要求进行¹³。应确定出厂技术指标，保证产品在规定的储存期内符合使用要求
- 监管或法定标准中的技术指标。这些标准中包含明确的特性要求和限度指标

其他建议有：

- 当递交药物申请时必须确定其技术指标，并将其写入 NDA 或 BLA 文件中。在那个阶段，数据还很有限，尤其是生产工艺稳定性的数据有限。因此，如果有了更多可靠的数据，并且生产的稳定性也有了提高，不会影响产品质量（如安全性和有效性），这时，可以对技术指标进行修订
- 当从临床的安全性和有效性数据中无法得到全部特性参数的限度时，应设定足以反映工艺变化和批间重现性的限度指标
- 除了产品技术指标以外，还应设置更为严格的控制和处置限度，并进行监控。可以在不合格（OOS）情况出现以前，对可能发生的质量问题进行识别并采取纠正措施。这样，不仅有助于减少 OOS 情况和故障调查，还有助于持续的工艺改进

5.32 原料药和药物制剂的技术指标

原料药和药物制剂均应制定技术指标。大部分技术指标是类似的，但有部分技术指标的关注重点不同。例如，制剂的杂质检查针对的是产品和工艺杂质，而原料药的杂质检查主要关注降解产物。指南中建议对原料药和制剂的外观、身份、纯度、杂质、效价和含量进行检查。

外观和一般试验

原料药和制剂都必须对物理状态（如固体或液体）、颜色和可见异物等可观测项目进行目测检查和描述。

身份鉴定

鉴定试验应有高度的特异性，应当基于分子结构的独特性质。这种试验通常为定性试验。

纯度和杂质

原料药检测的主要目的是将主成分与产品和工艺相关杂质分离，而制剂检测主要关注主成分与储存过程中产生的降解产物和辅料的分离。纯度和杂质的检测通常需要几种方法的联合应用。

效价

制剂的技术指标中应包含一种相关的、验证过的效价测定方法。如果制剂有合适的效价测定方法，用其他理化和/或生物方法可能足以进行原料药的纯度检测。同样的，如果原料药有合适的效价测定方法，制剂也可以用其他的理化和/或生物方法进行纯度检测。不过，必须给出方法选择的理由。

含量

原料药和制剂的含量通常取决于所含蛋白质的量，通过合适的方法进行测定。

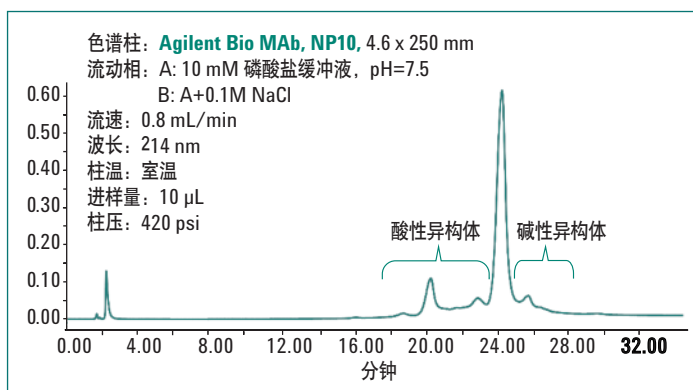


图 14

HPLC 分离单克隆抗体的酸性和碱性异构体

5.4 验证质量标准和验收标准的方法

图 15 给出了一整套药品技术指标的分析过程示例。药品或药用原料的外观、颜色、可见异物和溶解物等常规分析可用于验证在纯化或贮存过程中是否发生显而易见的变化。溶解物的浓度可以通过渗透压摩尔浓度来测定。

有很多技术可以用于鉴定试验和异质性的测定。蛋白质一般通过几种检测方法的组合进行鉴定，包括液相色谱、电荷分布、分子量和结构测定。例如，完整分子和亚组分的分子量可以通过 SDS-PAGE 或 SEC HPLC 方法测定。将 HPLC 分离峰的紫外光谱或质谱与对照品的保留时间和谱图比较，是常用于蛋白质鉴定的一种方法。糖基化的异质性可以通过 GC-MS 或 HPAEC-PAD 和寡糖谱分析单糖的组成进行测定。

一些鉴定试验的方法也可用于纯度和杂质的检测。例如降解物、截断型和异构体等与产品相关的杂质可以通过 HPLC、UHPLC、MS、LC/MS 以及还原性和非还原性 SDS-PAGE 进行测定。二聚物和高聚物可以采用分子排阻色谱法和分析型超速离心测定。

与下游工艺相关的杂质包括残留溶剂、酶、无机盐，以及重金属、塑料、树脂等浸出物。下图例举了 GC 顶空分析和 ICP-MS/OES 分析作为残留溶剂和痕量金属的分析方法。

	技术指标	检测方法	
一般试验	pH	校正过的 pH 计	
	溶解物的浓度	渗透压摩尔浓度	
	外观	颜色、澄清度和可见异物，目测	
身份和异质性	液相色谱法	HPLC, UHPLC, LC/MS, SEC	
	电荷分布	离子交换色谱 (IEC)、等电聚焦 (IEF)	
	分子量	SEC, MS, SDS-PAGE	
	一级结构	通过 Edman 化学降解和 HPLC 测定肽图	
	高级结构	NMR、圆二色性	
	糖基化的异质性	用 GC-MS 或 HPAEC-PAD 和寡糖谱进行单糖组成分析	
	蛋白质氨基端的异质性	用自动 Edman 化学降解和 HPLC 测定 N-端序列	
纯度和杂质	通过 C-端和截断型的鉴定进行异质性分析	结合肽图分析和 ES-MS/MS 进行 C-端测序	
	降解物、截断型、亚型	SDS-PAGE (还原性和非还原性) HPLC, UHPLC, LC/MS	
	脱酰胺基产物	等电聚焦、IEC、肽图分析	
	二聚体和多聚体	SEC、分析型超速离心、SDS PAGE	
	翻译后修饰	基于肽图的二硫键分析，用合适的酶消化并用 LC-EC/MS 分析 C-端序列分析	
	宿主细胞蛋白质	SDS-PAGE、免疫分析	
	相关蛋白质	SDS-PAGE、免疫分析、HPLC、LC/MS	
	工艺相关杂质示例	残留溶剂用 GC 顶空和 GC-MS 顶空测定；痕量金属用 ICP-MS 和 ICP-OES 测定	
	效价	充分验证的生物效价测定	效价
	含量	蛋白质含量	UV 扫描

图 15
生物药品的出厂检验示例

图 16 显示了分子排阻色谱法分离单克隆抗体的单体和二聚体的色谱图示例。

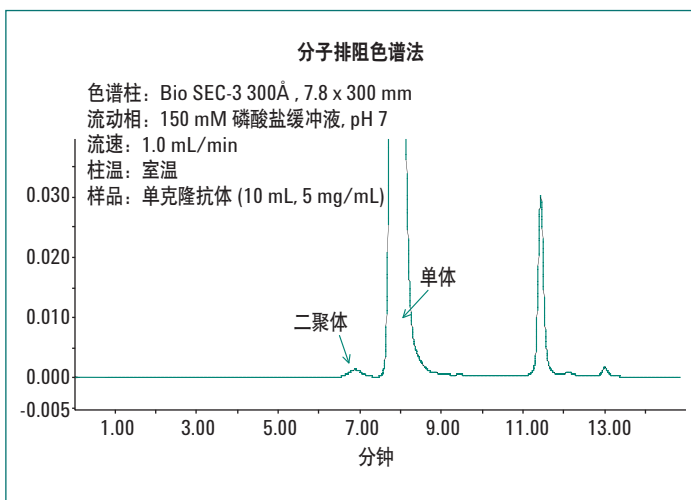


图 16
通过分子排阻色谱法分离单克隆抗体及其二聚体

参考文献

术语表

参考文献

1. G. Walsh, Biopharmaceuticals, Biochemistry and Biotechnology, Wiley, **2003**
2. I.R. Berry and R.P. Martin, The Pharmaceutical Regulatory Process, Informa, New York, **2008**
3. D.J. Pisano and D. Mantus, FDA Regulatory Affairs: A Guide for Prescription Drugs, Medical Devices and Biologics, CRC press, Boca Raton, **2004**
4. H.C. Mahler, G. Borchard and H-L-Luessen, Protein Pgarmaceuticals, Editio Cantor Verlag, Aulendorf, **2010**
5. L. Huber, 分析仪器验证和系统验证, 安捷伦科技, 出版号: 5990-3288CHCN, **2009**
6. L. Huber, 分析方法验证, 安捷伦科技, 出版号: 5990-5140CHCN, **2010**
7. U.S. FDA – Guidance for Industry (draft): Analytical Procedures and Methods Validation: Chemistry, Manufacturing, and Controls and Documentation, **2000**
8. U.S. FDA – Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, **2001**
9. U.S. FDA – Microbiological Pharmaceutical Quality Control Labs, **1993**
10. U.S. FDA – Biotechnology Inspection Guide, **1991**
11. European Commission: The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Volume 4: Good Manufacturing Practices Medicinal Products for Human and Veterinary Use, **2004**

12. ICH Q6B “Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/biological Products”, **1999**
13. Q5C “Quality of Biotechnological Products : Stability Testing of Biotechnological/Biological Products”, **1996**
14. Q5D: Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products, **1997**
15. Q5E: Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process, **2004**
16. S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals, **1997**
17. ICH Q2(R1), Validation of Analytical Procedures: Definitions and Methodology, Geneva, **2005**
18. PIC/S Guide: Inspection of Biotechnology Manufacturers, **2007**
19. USP Chapter <111> on “Design and Analysis of Biological Assays”
20. USP Chapter <1058> on “Analytical Instrument Qualification”
21. USP 32 – NF 27, General Chapter 1226, Verification of Compendial Procedures, **2009**
22. I.K. Krull and A.S. Rathore, Analytical Tools for Characterization of Biotechnology Products and Processes, Chromatography Online, June **2010**
23. USP Stimuli Paper: Transfer of Analytical Procedures: A Proposal for a New General Information Chapter, Pharmacopeial Forum, Vol. 35 (6), **2009**

-
24. A. S. Rathore, Analytical Tools for Process and Product Characterization, BioPharm, August **2009**
 25. ICH Q6A, Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances
 26. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) Principles of Good Laboratory Practice, **1998**
 27. FDA Guidance for Industry CGMP for Phase 1 Investigational Drugs
 28. K. Hashimoto, S. Kawano, S. Goto, K. F. Aoki-Kinoshita, M. Kawashima and M. Kanehisa, A Global Representation of the Carbohydrate Structures: a Tool for the Analysis of Glycan, Genome Informatics 16(1): 214-222, **2005**
 29. European Medicines Agency: Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Monoclonal Antibodies (draft), **2010**
 30. M. Swartz and I. Krull, Analytical Method Validation for Biotechnology Proteins, Peptides, and Antibodies, Chromatography Online, July **2009**

术语表

ANDA	简化新药申请
API	活性药物成分
BLA	生物制品许可证申请
CBER	生物制品评价和研究中心
CD	圆二色性
CDER	药品评价和研究中心
CFR	联邦法规
CMC	化学、生产与控制
DAD	二极管阵列检测器
DP	药品成品
DS	药品原料
ELISA	酶联免疫分析
EMA (previously EMEA)	欧洲药品监管局
EP	欧洲药典
EU	欧洲联盟， 欧盟
FDA	(美国) 食品药品监督管理局
GCP	药品临床试验质量管理规范
GLP	药品非临床研究质量管理规范
GMP	药品生产质量管理规范
HHS	卫生和福利部
HPAEC-PAD	脉冲电流检测-高效阴离子交换色谱法
HPLC	高效液相色谱法

ICH	人用药物注册技术要求国际协调会
IEF	等电聚焦
IND	试验性新药（申请）
MALS	多角度激光散射
NDA	新药申请
NBE	新生物实体
NCE	新化学实体
PIC/S	药品检查协定和药品检查合作计划
PTM	翻译后修饰
QA	质量保证
QC	质量控制
SDS-PAGE	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳
SEC	分子排阻色谱法
SEC-MALS	多角度激光散射-分子排阻色谱法
SOP	标准操作规程
USP	美国药典
WCBP	良好表征的生物药品

www.agilent.com/chem/cn

客户服务中心免费专线：
800-820-3278 400-820-3278（手机用户）

安捷伦科技（中国）有限公司，2011
2011年2月1日，中国印刷
出版号 5990-7001CHCN



Agilent Technologies