



国际人用药品注册技术协调会

ICH协调指导原则

分析方法开发

Q14

草案

2022年3月24日签署

目前公开征求意见

在ICH进程的第2阶段，ICH大会将由ICH专家工作组认可的共识草案文本或指导原则按照国家或地区程序交给ICH区域的监管机构进行内部和外部征求意见。

Q14

文件历史

编码	历程	日期
Q14	ICH大会成员认可作为第2阶段草案，并公开征求意见。	2022年3月24日

法律声明： 本文件受版权保护，在始终承认ICH拥有本文件版权的前提下，基于公开许可可以使用、复制、在其他文件中引用、改编、修改、翻译或传播。如对本文件进行任何改编、修改或翻译，必须采取合理措施清晰注明或以其他方式标记对原始文件进行的变更。必须避免产生误导使人认为ICH签署或发起对原始文件的改编、修改或翻译。

本文件根据现有内容提供，不附带任何形式的保证。在任何情况下，ICH或原始文件的作者均不承担因使用该文件而产生的任何索赔、损失或其他责任。

上述许可不适用于第三方提供的内容。因此，对于版权归第三方所有的文件，必须获得版权持有者的复制许可。

ICH Q14指导原则

ICH协调指导原则

分析方法开发

Q14

ICH共识指导原则

目录

1. 引言	1
1.1 目的	1
2. 范围:	1
2.1 分析方法开发和生命周期管理的一般考虑	1
2.2 分析方法开发的基础方式与增强方式	2
2.3 分析方法生命周期	3
3. 分析目标概况 (ATP)	4
4. 分析方法开发和持续改进中的知识管理和风险管理	4
4.1 知识管理	4
4.2 风险管理	5
5. 分析方法耐用性和参数范围的评估	5
5.1 耐用性	5
5.2 分析方法参数范围	6
6. 分析方法控制策略	7
6.1 分析方法的既定条件	8
7. 分析方法的生命周期管理和批准后变更	8
8. 多变量分析方法的开发	12
9. 实时放行检验的分析方法开发: 特殊考虑	15
10. 分析方法相关信息的提交	16
10.1 一般监管考虑和文件	16
10.2 加强方式的文件	16

10.3 多变量分析方法和RTRT文件	17
11. 术语表	19
12. 参考资料	26
13. 附录	26
13.1 附录A-分析方法生命周期	26
13.1.1 小分子原料药 (DS) 中作为特定工艺杂质的立体异构体测定	28
13.1.2 抗TNF- α 单克隆抗体的效价测定	40
13.2 附录B: MODR验证策略	65

1 引言

1.1 目的

本指导原则描述了运用科学和风险管理进行分析方法的开发和维护，以适用于原料药和制剂的质量评估。ICH Q8“药品研发”中建议的系统方法与ICH Q9“质量风险管理”中的原则也可用于分析方法的发展和生命周期管理。进行分析方法开发时，可采用基础（即传统型）方式或加强型方式的要素。

此外，指导原则还描述了*多变量分析方法开发和实时放行检测（RTRT）*的注意事项。

本指导原则旨在对*ICH Q2“分析方法验证”*的内容进行补充。向监管机构提交分析方法开发的相关知识和信息，可提供额外证据证明分析方法适用于其预期目的。

使用*ICH Q12“药品生命周期管理的技术和监管考虑”*中描述的工具，本指导原则描述了基于风险管理的分析方法变更管理原则、对分析方法的全面理解以及对*性能特征*预定标准的遵守。应用增强方式进行分析方法开发时获得的知识，可更好地保证方法性能，可作为*分析方法控制策略*的依据，并且可能使相关批准后变更的监管途径效率更高。

本指导原则还描述了以通用技术文档（CTD）格式（*ICH M4Q“人用药物注册通用技术文档：药学部分-M4Q”*）提交分析方法开发和相关生命周期信息的方法。

2. 范围：

本指导原则适用于商业原料药和制剂（化学药品和生物制品/生物技术制品）放行和稳定性试验所用的新分析方法或修订的分析方法。本指导原则也适用于遵循基于风险管理、包含于*控制策略*的其他分析方法（*ICH Q10“药品质量体系”*）。本指导原则中描述的科学原则可在合适的临床开发期间应用。在根据需要与相应的监管机构征求意见后，本指导原则也可适用于其他类型的产品。药典分析方法的开发不在本指导原则的适用范围内。

2.1 分析方法开发和生命周期管理的一般考虑

开发目的是获得适用于预期目的的分析方法：在*可报告范围内*，以规定的*专属性/选择性、准确度和/或精密度*，对分析物质的一项或多项属性进行测定。

28 本节描述了分析方法开发的基础方式和增强方式。虽然基础方式仍可接受，但增
29 强方式的部分或全部要素可用于支持分析方法的开发和生命周期管理。

30 在某些情况下，已确立的分析方法在检测条件几乎不进行更改即可应用于多种产
31 品。对于此类平台分析方法的新应用，后续的开发内容可缩简，且根据基于科学和风
32 险的合理依据，可将某些验证试验省略。分析方法验证中考虑的性能特性详情见ICH
33 Q2。

34 一般而言，开发研究期间获得的数据（例如，实验设计（DoE研究）的耐用性数
35 据）可用作相关分析方法性能特性的验证数据，且无需重复试验。

36 2.2 分析方法开发的基础方式与增强方式

37 基础方式

38 分析方法开发应酌情包括以下要素：

- 39 • 鉴别原料药或制剂需要通过分析方法进行检测的属性。
- 40 • 选择适当的分析方法技术及相关仪器或适宜设备。
- 41 • 进行适当的开发研究，以对分析方法的性能特性进行评价，如可报告范
42 围内的专属性、准确度和精密度（包括校准模型、范围上限和/或下限）和耐用
43 性。
- 44 • 明确适当的分析方法描述，包括分析方法的控制策略（例如，参数设置
45 和系统适用性）。

46 增强方式

47 增强方式提供了用于分析方法开发和知识完善的系统方式。除基础方式中所述要
48 素之外，增强方式还应包括下列一项或多项要素：

- 49 • 根据对生产工艺的了解，对样本特性和样本预期变异性进行的评价。
- 50 • 定义分析目标概况（ATP）。
- 51 • 进行风险评估和既往知识评价，以识别可能影响方法性能的分析方法参
52 数。
- 53 • 进行单变量或多变量实验，以探索已确定分析方法参数的范围和相互作

54 用。

55 • 根据对增强方法的理解，定义分析方法控制策略，包括相关分析方法参
56 数的适当设定值和/或范围，从而确保符合性能标准。

57 • 定义生命周期变更管理计划，其中既定条件（EC）、经证实的分析方法
58 可接受范围（PAR）或方法可操作设计区域（MODR）的明确定义及报告类别
59 （如适用）。

60 将增强方式的要素应用于分析方法开发，可提高分析方法的耐用性，更好地理解
61 分析方法参数的影响，并提高生命周期管理的灵活性，如更宽的操作范围、更适当的
62 EC和相关变更报告类别。

63 增强方式可提供多种优势，包括：

64 • 了解对于方法性能至关重要的分析方法属性（即ECs）。

65 • 采用与关键质量属性（CQAs）及其可接受标准相关的预定义性能特性
66 （如，在ATP中），从而为分析方法验证及对当前和新订分析方法/技术的日后
67 比较提供目的驱动方案。

68 • 完善分析方法控制，提高操作可靠性。

69 • 运用更多分析方法知识，设立预防措施并促进持续改善。

70 • 减少分析方法生命周期内的维护管理工作量。

71 2.3 分析方法生命周期

72 图1描述了分析方法生命周期的要素。本指导原则描述了分析方法开发和变更管理
73 方法，ICH Q2则描述了分析方法验证。根据分析方法的预期用途和所采用的开发方
74 式，各要素的顺序和程度可能有所不同，多个要素可能同时存在。

75 图1：分析方法生命周期

93 与产品和生产工艺开发（*ICH Q10*）相同，知识管理在分析方法开发和分析方法
94 生命周期管理中起到关键作用。

95 在分析方法开发和生命周期管理中，将直接或间接地使用既往知识，以为决策提
96 供信息。既往知识可以是来自公司自有开发和分析经验的内部知识、外部知识（如科
97 学和技术出版物参考）或确立的科学原理。

98 既往产品知识在确定适当的分析技术方面具有重要作用。掌握最佳实践规范、当
99 前最先进技术以及当前监管预期的相关知识，有助于为特定目的选择最合适的技术。
100 可利用现有平台分析方法（例如，通过紫外光谱法测定蛋白质药物的蛋白质含量）对
101 特定产品的属性进行评价，而无需进行额外的方法开发。

102 随着不断获取新的信息，应在整个产品生命周期内，积极管理分析方法相关知
103 识。

104 4.2 风险管理

105 鼓励使用质量风险管理来帮助开发耐用分析方法，从而降低性能不佳和报告结果
106 不正确的风险。风险评估通常在分析方法开发早期阶段进行，并在获得更多新信息时
107 重复进行。风险评估可以是正式的或非正式的评估，并可使用既往知识支持。

108 ICH Q9附件1中所述风险评估工具可用于

- 109 • 确定可能影响分析方法性能的方法参数（因子和操作步骤），例如附件A图1和
110 图2（Ishikawa图）。
- 111 • 评估分析方法参数对分析方法性能的潜在影响。
- 112 • 确定并优先考虑需进行实验研究的分析参数。

113 风险控制原则可用于确立分析方法控制策略。为确保始终对分析方法性能进行控
114 制，建议将*持续监测*作为风险审评的一部分。

115 应通过风险沟通对分析方法性能在整个生命周期内的持续改进提供支持。质量风
116 险管理的结果应记录在申请人的药品质量体系（PQS）中。

117 5. 分析方法耐用性和参数范围的评估

118 5.1 耐用性

119 分析方法的耐用性是衡量其在正常使用过程中符合预期性能要求能力的指标。通
120 过有意改变分析方法参数来对耐用性进行检测。既往知识和风险评估可为耐用性研究
121 期间研究参数的选择提供参考。在预期使用期内可能对方法性能产生影响的参数，应
122 予以研究。

123 对于大多数分析方法，都应在开发期间进行耐用性评价。如果开发期间已经进行
124 了耐用性评价，则根据ICH Q2，在验证期间无需重复进行评价。验证研究数据（例如
125 中间精密度）可用于对耐用性评价进行补充。对于某些方法参数存在固有高度变异性的
126 的分析方法（例如，需要生物试剂的分析方法），耐用性研究期间可能需要对更宽的
127 范围进行考察。多变量方法的耐用性评价可能需要对更多因素进行考虑（参见第8
128 章）。耐用性评价结果应反映在分析方法控制策略中。

129 5.2 分析方法参数范围

130 研究参数范围的实验可提供关于分析方法性能的额外知识。从ATP中，可推导出
131 相应的分析方法属性和相关标准。单个参数的单变量检查可为分析方法确立经证实可
132 接受范围（PAR）。

133 在增强方式中，可在多变量实验（DoE）中对相关参数范围及其相互作用进行研
134 究。应使用风险评估和既往知识确定需实验研究的参数、属性和适当的相关范围。分
135 类变量（例如，不同仪器）也可视为实验设计的一部分。

136 开发研究（包括DoE）的结果可为分析方法变量（输入）和分析方法响应（输
137 出）之间的关系带来更深的理解。基于这些结果，可为一些参数定义固定的设定值。
138 对于其他参数，可为其定义PAR，而剩余的参数则可纳入MODR中。MODR由两个或
139 多个变量的组合范围组成，在该范围内分析方法适用于预期用途。

140 申请人可根据开发数据拟定参数范围（例如PAR或MODR），并需获得监管机构
141 的批准。在既定参数范围内的变动无需提交监管通知。

142 出于实际原因并遵循基于风险的方式，可能没有必要或无法对整个MODR进行验
143 证。验证数据必须涵盖分析方法中预期会常规使用的PAR或MODR部分。在附件B中
144 描述了MODR的验证方式，包括展示性能特性以及分析方法属性可接受标准、参数范
145 围、分析方法控制策略和验证策略的示例表。仅分析方法开发数据中未涵盖的性能特
146 性需要进行分析方法验证。分析方法验证策略（如，作为分析方法验证方案的一部

147 分) 可以定义额外验证的必要范围。

148 6. 分析方法控制策略

149 分析方法控制策略应确保分析方法在整个生命周期内的常规使用过程中性能符合
150 预期, 且控制策略由多个控制项组成, 这些控制项源自对分析方法的当前理解, 包括
151 开发数据、风险评估和耐用性。既往知识也可用于分析方法控制策略的开发。按照
152 ICH Q2, 在验证前对分析方法控制策略进行定义, 并在验证完成后对其进行确认。

153 分析方法控制策略包括需要控制的分析方法参数和属于分析方法描述一部分的系
154 统适用性试验 (SST)。分析方法描述应包括进行各分析检测所必需的步骤。描述中
155 可能包括 (但不限于) 样本、参比物质和试剂、样本和对照的制备、仪器的使用、校
156 准曲线的生成、计算可报告结果所用公式以及其他必要步骤。描述需达到有经验的分
157 析人员进行分析和结果判断所必需的详细程度 (例如相似物质在地区药典中的详细程
158 度)。

159 SST取决于分析方法的类型和目的, 且通常采用一种或多种预先定义好的材料进
160 行 (包括使用阳性或阴性对照)。SST设计用于对所选分析方法的属性进行确认。可
161 接受标准应基于分析方法性能标准。选择SST的组成部分时, 应用到风险评估以及开
162 发数据中的知识和理解。系统适用性试验旨在对预期分析期间与分析方法相关的检测
163 系统和分析操作的充分性进行确认, 并检测出潜在失效情况。分析方法结果的有效性
164 取决于SST结果。在增强方式中, 一套为保证方法性能而精心设计的SST参数和标准,
165 可代表风险缓解的一个重要措施。对于依赖多变量模型的分析方法, 应使用适当的软
166 件工具确认数据质量。

167 除SST外, 可能需要进行样本适用性评估, 以确保样本响应可接受。如果测定的
168 样本响应值符合为验证分析方法 (通常用于生物制品) 所开发的分析方法属性预定可
169 接受标准, 则认为样本和/或样本制备液具有适用性。在这些情况下, 样本适用性以及
170 SST合格结果是结果有效性的先决条件。对于依赖多变量模型的分析方法, 可使用适
171 当的软件工具对样本适用性评估进行确认, 这类工具能检查样本是否符合模型空间。
172 这一过程通常称为数据质量检查。

173 为符合PQS预期, 建议对所选分析方法的输出结果进行持续监测, 以识别任何可
174 能的趋势。对分析方法输出结果进行审查, 有助于方法生命周期的管理, 且能够主动

175 采取干预措施以避免失效情况。

176 6.1 分析方法的既定条件

177 根据ICH Q12，申请人可规定分析方法的既定条件（EC）。EC由申请人提出并论
178 证其合理性，并经监管机构批准。可使用第4章中提到的工具包括风险评估、既往知
179 识、以及单变量和/或多变量实验的结果信息，对EC进行确定。EC的性质和程度取决
180 于开发方法的方式、分析方法的复杂性以及对于参数和其他因素如何影响其性能的经
181 验证的理解。

182 采用基础方式开发，EC的数量可能众多，包括固定分析方法参数和设定值等。

183 使用增强方式开发，对分析方法参数和性能之间关系的理解则应加深，从而有助
184 于确定需要进行控制的因素，最终获得一组更为适当的EC。这些EC可集中于性能特性
185 （例如，专属性、准确度、精密度）。

186 EC可包括性能标准（例如，在ATP中或作为SST的一部分）、分析方法原理（即
187 物理化学依据或特定技术）以及一个或多个参数的设定值和/或范围。需要进行控制以
188 确保方法性能的分析方法参数、以及无法合理排除控制需求的分析方法参数，均应确
189 定为EC。如果通过性能特性和标准对某一参数进行控制，则这个参数可能无需确认为
190 EC，或可将其指定为较低的报告类别。

191 使用增强方式时，在注册申报资料中提供的分析方法描述详尽程度不应更少。无
192 论采用何种方式确定分析方法的EC，均应在CTD模块3中以适当的详细程度对分析方
193 法进行描述，从而提供明确的理解信息。分析方法描述可包括支持性信息以及确定的
194 EC。

195 EC报告类别的确定以及EC在变更管理中的应用见下一章。

196 7. 分析方法的生命周期管理和批准后变更

197 分析方法在整个产品生命周期内均有可能发生变更，并且变更可能涉及现有方法
198 的修改或完全替换（包括新技术的引入）。在某些情况下，性能特性的重大变更或新
199 的属性信息可能导致需要对ATP本身进行重新评价和/或建立新的方法。通常，工艺知
200 识、分析方法知识和持续改进都是变更的推动因素。在可能情况下，所作变更应令经
201 改进的分析方法符合最佳实践规范和仪器设置。ICH Q12中讨论的工具和推动因素适

202 用于各种分析方法（无论其采取何种开发方式），这些工具和推动因素包含：

- 203 • 现有的基于风险的分析方法变更分类（在适用的区域监管框架内）
- 204 • EC
- 205 • 批准后变更管理方案（PACMP），其中详细解释未来变更的管理方式，
- 206 并为MAH提供确切的未来变更和相关报告类别降低的可接受程度。
- 207 • 产品生命周期变更管理（PLCM）文件，有助于促进针对可能批准后变
- 208 更的监管沟通。
- 209 • PQS（对所有变更的记录，包括无需进行监管申报的变更，例如，
- 210 MODR内或视为不会影响方法性能的参数）
- 211 • CMC批准后频繁变更的结构化方法（ICH Q12第8章）

212 如果采用了基础方式开发，则应根据当前区域报告要求对任何变更进行报告。使
213 用增强方式不同要素有助于批准后变更的管理和监管沟通。

214 如果经过适当合理性论证和验证（见第5.2章），PAR或MODR允许在批准范围内
215 灵活操作，并在公司的PQS范围内对其进行管理。超出批准范围的变更或上述范围的
216 扩大，则需要进行监管报告。

217 在申报EC的情况下，应事先对与预期变更相关的风险进行评估，以确定适当的报
218 告类别。需要考虑的因素包括待检测质量属性的重要性、技术的复杂性和变更的程
219 度。应根据产品和工艺知识、对分析方法的理理解以及拟定的分析方法控制策略，确定
220 相关的风险降低措施。最后，应指定风险等级（高、中或低）。

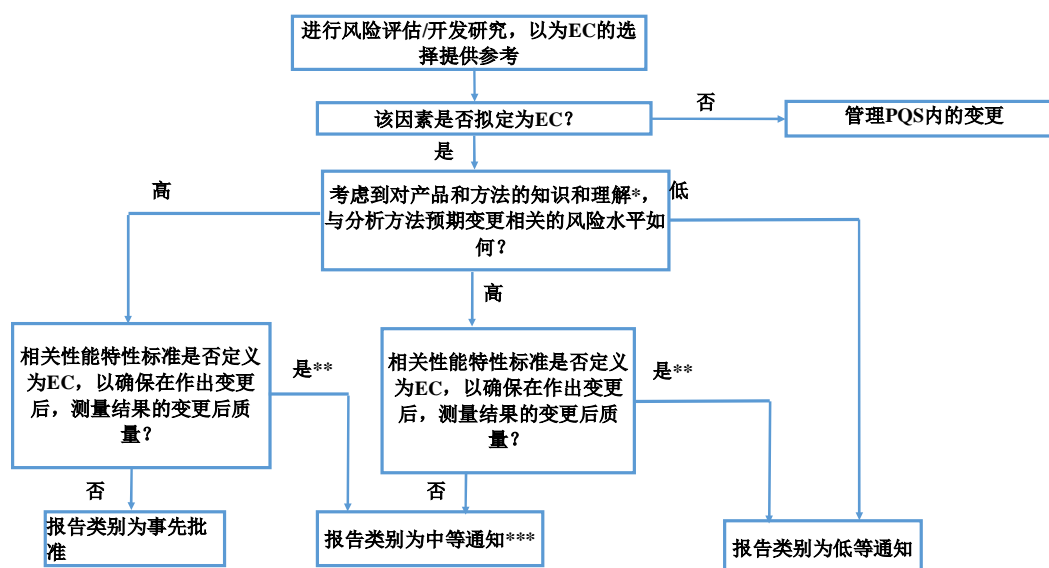
221 一般而言，对分析方法耐用性和/或既往知识的理解可用于支持与未来变更相关的
222 风险缓解措施。确定EC后，向监管机构提交风险评估结果有助于证明分析方法后续变
223 更报告类别的合理性。

224 图2总结了风险评估和风险降低措施如何帮助确定EC的适当报告类别。针对确定
225 为EC的性能特性建立性能标准（例如在ATP中），有助于降低与变更相关的风险。建
226 立性能标准能够确保分析方法在变更后始终符合目的，从而构成桥接策略的基础。非
227 EC参数变更应记录在PQS中，但无需进行监管报告。

228 ATP还可构成PACMP的基础，在满足变更预定要求的前提下，可允许在较低报告

229 类别下报告变更（例如，技术变更）。

230 **图2：增强方式中确定EC及相关变更报告类别的风险评估方式**



231

232 *包括分析方法控制策略

233 **应提供足够的信息或既往知识，以便能设计出适当的未来桥接研究

234 ***在某些情况下，根据卫生当局的反馈，公司提出的中等风险变更可能需要得到事先批准

235 附件A中给出了拟定适当报告类别的方法示例。

236 实施分析方法变更时，可采用QRM对变更的影响进行评价，并再次确认最初商定的
 237 的报告类别是否仍然适用。该风险评估的结果可为支持变更所需研究（包括适当的桥
 238 接策略，以证明经修订或新订方法符合目的）的设计和程度范围提供参考。在不同地
 239 点实施已验证的分析方法，包括分析方法转移的概念，应遵循相同的确认和桥接策略
 240 （表1和表2）。

241

242

243

244

245

246

247

248 表1: 分析方法变更的知识、风险和研究程度之间的关系

知识	与变更相关的风险	
	低	高
高	根据先前定义的方案或既往知识进行确证性研究	根据先前定义的方案进行深入研究
低	进行确证性研究（包括研究设计）	进行深入评价（包括研究设计）

249 对于产品和工艺变更，可能需要对ATP进行重新评估和潜在调整（如有使用），
250 并对分析方法的适用性进行重新评估。

251 如果申请人提出新的分析方法，应进行全面的风险评估和评价，以确定其对性能
252 的影响。需要确立新方法的分析方法控制策略。报告变更时，应证明与新方法相关EC
253 的合理性。

254 表 2 举例说明了建议用于支持变更的数据，具体取决于变更程度和已确定的风险类别。
255

256 表2: 分析方法变更评价示例

风险因素: 变更程度	桥接策略	新方法适用性的证据
分析方法原理变更（理化/生化依据）	新方法的全面验证 和 对代表性样本和标准品进行对比分析。 和/或 证明分析方法区分可接受和不可接受结果的能力仍然相当	变更后对分析方法性能特性进行评价且结果仍符合标准 和 变更后结果仍然相当或差异可接受，并且对质量标准的潜在影响进行了评价
在相同分析方法原理内的变更，例如： 1. 方法修订 2. 将方法转移至不同地点/环境	对受变更影响的分析方法性能特性进行部分或全面再验证 和/或 对代表性样本和标准品进行对比分析	变更后，对分析方法属性进行评价且结果仍符合标准 和/或 变更后结果仍然相当或差异可接受，并且对质量标准的潜在影响进行了评价

257 为支持使用本指导原则中描述的工具，公司的 PQS 变更管理流程应有效且符合
258 ICH Q12 中描述的建议。在生命周期内，MAH 应评价性能、进行趋势分析、评估获得
259 的知识并重新评价分析方法是否仍然符合目的。

260 8. 多变量分析方法的开发

261 多变量分析方法是通过利用多个输入变量开发的多变量校准模型来确定结果的方
262 法。本章涉及的考虑因素适用于使用潜变量（在数学上与直接检测的变量相关）的模
263 型。其他方法（如机器学习中的神经网络或其他优化技术）可应用类似原理，但具体
264 的方法可能有所不同，此处不做详细讨论。

265 稳健的多变量分析方法的开发过程包括经科学论证的样本选择和分布范围、样本
266 量、模型变量选择和数据预处理。

267 样本和样本群体

268 多变量模型将检测的模型变量与从验证过的参比方法或从参比样本中获得的数值
269 关联。因此，多变量分析中的样本包含输入检测值及其相应参考值，对于定量检测
270 （例如，含量测定）为数值、对于定性方法（例如，鉴别）为类别。在某些情况下，
271 如果存在多个参考值，则一组输入检测值可用于多个模型。参考值可通过参比分析方
272 法或制备参比样本（含已知值）来测定。应注意，参比分析方法的不确定性相对于多
273 变量分析方法的性能应足够低，并且制备参比样本是均匀的。应对参比方法或制备参
274 比样本的使用进行解释并证明其合理性。

275 多变量模型的范围通常基于样本数据。因此，谨慎的样本选择策略对于从分析数
276 据中获得相关信息至关重要，并且有助于所得模型的耐用性。根据方法和检测原理，
277 样本群体应包括在生产和分析过程中可能出现的变异来源，如原材料质量、生产工艺
278 的变异性、储存条件、样本制备和检测。使用风险评估工具有助于识别可能影响检测
279 值和最终模型输出结果的变异来源。

280 想要获得在商业规模下具有适当变异性的样本可能不容易。因此，通常使用研发
281 实验室规模和中试规模的样本来获得足够的变异性，从而提高模型的准确度和稳健
282 性。也建议纳入商业规模样本，以获得与特定设备和/或工艺条件相关的变异性。还应
283 对校准和验证集中的样本分布进行仔细考虑，因为这将影响模型的预测能力。

284 用于创建定量分析校准模型的样本数量将取决于样本基质的复杂性和/或目标分析

285 物信号中基质的干扰（即，对于更复杂的样本基质，通常需要更多样本）。

286 应提供足够的样本，以便建立包含适当样本量和变异性的、互相独立的校准和验证集，即用于验证集的样本不包含在样本校准或内部测试集中。由独立批次的样本生成的验证样本集可用于证明模型的稳健性。

289 变量选择

290 在模型开发期间进行变量选择。例如，在光谱应用中常常进行波长范围的选择，
291 以选择出最能估算待测（待建模）的化学或物理特性的光谱区域。变量的选择取决于
292 检测原理、应用等因素，并应证明其合理性。

293 数据转换

294 选择数据转换的方法可根据数据类型、仪器或样本、模型预期用途和/或既往知识
295 而定。进行任何数据转换，均应谨慎行事，因为可能引入伪差或造成必要信息丢失。
296 任何数据转换都应进行记录并说明其合理性。

297 耐用性

298 模型开发应尽量减少预测误差，提供能始终确保多变量模型长期性能的耐用模
299 型。应通过纳入与材料、工艺、环境、仪器或其他因素相关的变异性来源，将稳健性
300 构建到模型中。可通过既往知识和风险评估来确定变异来源，并使用统计工具进行评
301 价。耐用性取决于多个因素，例如，校准集的组成、数据转换方法、变量选择和潜变
302 量的数量。

303 多变量模型的优化是开发过程中的一个重要步骤，通常需要在准确性和稳健性之
304 间进行权衡。校正模型中使用的潜变量的数量是一个关键因素，可确保模型针对其预
305 期目的得以优化。在模型开发期间进行潜变量数量的选择，并在内部测试期间确认。
306 潜变量过多可能会导致模型过度拟合，并可能进一步导致稳健性下降、需要更频繁地
307 更新模型。应提供最终潜变量数量选择的合理性依据。软件包提供的诊断图有助于证
308 明合理性。

309 重新校准和模型维护

310 跟踪校准模型的性能是持续监测多变量分析方法的重要环节。可借助各种统计工
311 具作为诊断手段，确认模型假设。对于潜变量模型，这些诊断工具可包括：

- 312 • 残差检验，用于确定数据的未建模特征（例如x-残差或F-概率）
- 313 • 离群值诊断，用于确定数据是否在模型构建的范围内（例如，霍特林T²
- 314 或马氏距离）

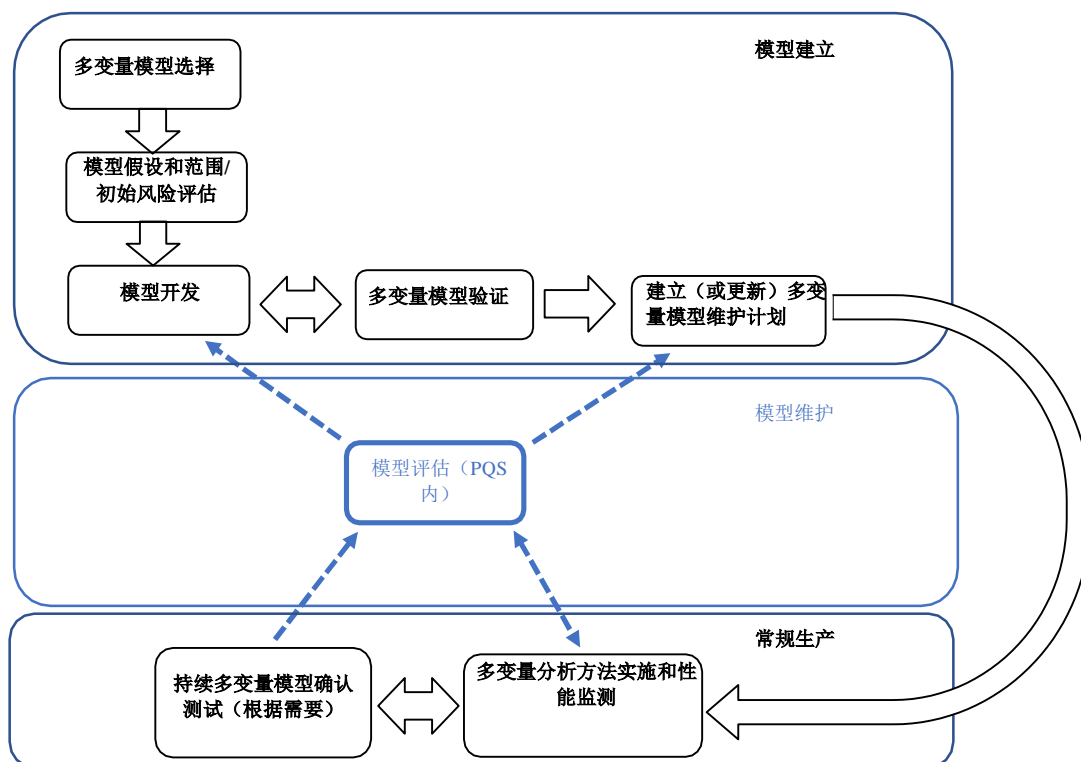
315 通过软件包可将诊断工具应用到每个模型的预测。

316 此外，应在定期或在事件驱动下，通过将模型预测值与参比样本或参比方法结果
317 进行比较，确认校准模型的持续性能。该确认性测试有助于确保校准模型持续按预期
318 运行。可能触发确认性测试的事件包括新发现的工艺变异性、非预期的工艺事件或计
319 划仪器维护。

320 作为持续改进的一部分，可通过对模型监测触发模型重建（重新校准）。一般而
321 言，需要考虑的因素与开发原始模型和内部测试时相同。基于模型更新的原因（例
322 如，工艺变更），可能需要加入新的数据并除去旧的不相关数据。

323 确立新的校准模型后，可按照与原始模型中相同的性能标准对更新后的分析方法
324 进行验证。模型更新后预期不会发生变化的方面可能无需进行评价（例如专属性）。

325 **图3：多变量模型生命周期**



326
327 多变量模型的生命周期是迭代的，可分为3个主要部分：（1）模型建立；（2）常

328 规生产；（3）*模型维护*。

329 多变量模型的选择应基于分析方法要求和所选的检测技术。模型开发之前，需确
330 定模型的性能因素，包括基础模型假设和模型适用性的期望范围。初始的风险评估对
331 于了解源自物料和工艺中那些可能影响模型性能的潜在变异性很有价值，因此应在模
332 型校准过程中予以考虑。模型开发（包括校准和内部测试）应遵循本章中概述的注意
333 事项。模型开发后，应使用未在校准集中使用过的独立数据对其进行验证。模型建立
334 的最后一步是制定多变量模型维护计划，其中包括离群值诊断的方法和限度，并确定
335 确认测试的频率和情形（如需要）。

336 多变量分析方法的常规分析通常应包括使用离群值诊断对每次检测的适当性进行
337 监测。建议按照预先规定定期或在特定事件发生后（例如，设备维护、新起始物料或
338 工艺变更），对照参比方法进行确认测试。如果确认测试或离群值诊断未能满足预定
339 定义标准，或数据趋势表明被测模型、工艺或物料存在潜在问题，则可触发模型评估
340 （多变量模型生命周期组成部分示例见附录C）。

341 在PQS内利用知识管理和风险评估进行模型评估。如果发现问题，可能需要进行
342 模型开发和再验证，例如，在校准集中添加样本，并移除不再相关的样本。在某些情
343 况下，模型可能运行正常，但基于其他经验，可能有必要修改模型维护计划中的限
344 度。其他情况下，所发现的问题则可能与量测系统有关（例如，样品取样接口错
345 位），因此不需要更新模型。图中的虚线箭头说明了根据模型评估的潜在结果重新进
346 入生命周期流程的情形。

347 **9. 实时放行检验的分析方法开发：特殊考虑**

348 *实时放行检验 (RTRT)* 是基于工艺数据评价和确保中间产品和/或成品质量的能
349 力，通常包括已测得物料属性和工艺控制的有效组合 (*ICH Q8*)。RTRT检测与控制
350 策略的所有要素（例如，工艺监测或过程控制）相结合，以确保产品质量。RTRT可用
351 于活性物质、中间体和成品。

352 RTRT可基于一种或多种工艺检测和/或物料属性的适当组合，提供对一个或多个
353 产品CQA的预测，并且针对该CQA具有专属性。RTRT方法与产品CQA之间的关系以
354 及可接受标准应充分论证。适当时，应根据ICH Q2对RTRT方法进行验证，并证明工
355 艺检测对目标产品质量属性具有适当的专属性。

356 在设计任何在线非原位或在线原位检测方法（包括用于RTRT的方法）时，采样和
357 样本取样接口都是重要的考虑因素。选择的检测点应能够代表生产中的全部物料，并
358 选择适当的采样时间或采样量（例如，相对于单位剂量）。此外，样本取样接口应在
359 整个生产过程中保持一致，并应对预期的工艺和环境变化具有稳定性。

360 根据ICH Q6A和Q6B，采用RTRT方式时应把RTRT分析方法和相关可接受标准一
361 起纳入产品质量标准中。定量RTRT结果的单位应与传统检测的单位相同。产品质量标
362 准通常还包括用于离线检测的分析方法。如果申报资料里包括RTRT的已注册替代控制
363 策略（例如，当无法进行过程分析时进行传统最终产品检测），则相关的分析方法以
364 及何时应用也应包含在提交的产品质量标准中。

365 10. 分析方法相关信息的提交

366 10.1 一般监管考虑和文件

367 分析方法的描述应包括在ICH M4Q CTD第3.2.S.4.2节（原料药）或第3.2.P.5.2节
368 （制剂）中。证明分析方法控制策略合理性所需的验证数据和任何支持性信息应包括
369 在CTD第3.2.S.4.3节（原料药）或第3.2.P.5.3节（制剂）中。作为控制策略一部分的其
370 他分析方法可包括在相关CTD章节中（例如，第3.2.S.2节、第3.2.P.3节和第3.2.P.4
371 节）。如第6章所述，分析方法应对各步骤进行详细描述，以便熟练的分析员执行分
372 析。验证数据的提交应遵循ICH Q2中的建议。验证研究中使用的标准应包含在提交文
373 件中。在某些情况下，根据预期用途（例如，溶出度检测）和/或所选技术，也可以提
374 交开发数据作为依据。

375 如第6章所述，如果为分析方法提出了EC，则EC应与支持性信息明确区分。在第
376 3.2.S.4.3节和第3.2.P.5.3节中可包括其他开发和验证信息，以证明EC及其报告类别的合
377 理性。当提交文件中包含ICH Q12中描述的其他生命周期管理要素时，申请人应遵循
378 ICH Q12和本文件第7章中描述的原则。

379 10.2 加强方式的文件

380 如果开发采用加强方式导致将加强要素纳入分析方法控制策略，则应证明其合理
381 性。

382 加强方式的性能特性和可接受标准（如ATP中所述）以及其他要素（例如，
383 MODR或PAR）应在分析方法描述的申报资料章节中进行说明（例如，第3.2.S.4.2节和

384 第3.2.P.5.2节)。如果提出了EC, 则还应将其纳入分析方法描述中, 并随附支持性信
385 息。使用加强方式不应导致注册申报资料中对分析方法描述的缩减。

386 如果提出了EC, 则应在提交文件中纳入基于风险的变更分类和相应的报告类别。
387 对于哪些为EC参数和非EC的参数, 应提供适当依据(见第6章)。对于那些非EC且通
388 常不需要包括在基本方法描述中包含的参数, 不需要提供依据。

389 应在注册申报资料的分析方法验证章节(例如, 第3.2.S.4.3节和第3.2.P.5.3节)中
390 总结并提交来自分析方法风险评估和开发研究的适当信息, 以支持拟定的生命周期管
391 理策略。

392 10.3 多变量分析方法和RTRT文件

393 应根据模型的影响水平提供与多变量分析方法相关的开发信息(ICH Q8/Q9/Q10
394 实施指南)。申报资料的工艺开发章节(如第3.2.S.2.6节或第3.2.P.2节)应包括作为生
395 产开发研究一部分的或作为过程控制或检测的多变量模型的开发信息。RTRT多变量模
396 型的支持性开发信息可纳入适当的分析方法验证或工艺开发章节。

397 用于制剂或原料药放行的多变量分析方法(包括RTRT)的验证信息应纳入申报资
398 料的验证信息章节(例如, 第3.2.S.4.3节或第3.2.P.5.3节)。此外, 这些章节还应包括
399 用作参比方法的分析方法的验证信息。模型开发、校准和验证信息可直接纳入CTD部
400 分或随附文件中。

401 对于用作原料药或制剂质量标准一部分的多变量模型, 包括RTRT方法, 验证方式
402 和结果描述应包括:

- 403 • 独立验证样本集的描述
- 404 • 多变量模型验证期间应满足的性能标准
- 405 • 根据性能标准对模型验证结果的评价
- 406 • 对模型性能标准和属性标准限度二者关系的讨论
- 407 • 模型监测和维护的PQS要素的高度概述, 例如用于确定模型样本
408 数据适用性的诊断工具, 以及发现离群值时采取的措施。

409 用于RTRT的多变量分析方法的描述应在CTD第3.2.S.4.2节(原料药)或第
410 3.2.P.5.2节(制剂)中提供, 通常包括:

- 411 • 通过多变量分析方法测定的目标特性或属性以及期望的定量范围
412 或限度
- 413 • 检测原理和相关仪器操作参数的描述（例如，样本呈现形式、样
414 本采集时间和检测频率）
- 415 • 如何获得多变量模型校准数据的概述（例如，样本制备方法、参
416 比方法）
- 417 • 多变量模型的类型（例如，主成分分析）
- 418 • 参比分析方法描述或参比样本制备的高度概述
- 419 • 将模型输出调整为报告值所需的任何计算

420 此外，第3.2.S.4.2节（原料药）或第3.2.P.5.2节（制剂）应包括作为已注册的
421 RTRT替代控制策略的任何分析方法的描述。

422

423 **11. 术语表**424 **准确度**

425 分析方法的准确度指的是真实值或认可的参考值与检测值之间的接近程度。

426 (ICH Q2)

427 **分析方法**

428 分析方法是指进行分析的方式。分析方法描述应包括对进行的每个分析检测所必
429 需步骤的详细描述。(ICH Q2)

430 **分析方法属性**

431 一种技术特性,应在适当的限度、范围或分布内,以确保检测结果的预期质量。

432 例如,色谱法检测的属性可能包括峰对称因子和分离度。(ICH Q14)

433 **分析方法控制策略**

434 基于对当前分析方法的理解而制定的一系列有计划的控制,可确保分析方法的性
435 能和检测结果的质量。(ICH Q14)

436 **分析方法参数**

437 任何可发生连续变化的(如,流速)或可控且具有明确水平设定的因素(包括试
438 剂质量)或分析方法的操作步骤。(ICH Q14)

439 **分析方法验证策略**

440 分析方法验证策略描述了如何选择用于验证的分析方法性能特性。在策略中,开
441 发研究(例如,使用MODR或PAR)期间和系统适用性试验(SST)期间收集的数据
442 可用于验证,并且可制定涵盖在MODR/PAR内的参数未来波动的实验方案。(ICH
443 Q14)

444 **分析目标概况(ATP)**

445 对能够满足分析检测预期目的和预期性能标准的性能特性的前瞻性总结。(ICH
446 Q14)

447 **校正模型**

448 一种基于已知样本分析检测的模型,该模型将输入数据与关注属性值(即模型输

449 出)相关联。(ICH Q2)

450 控制策略

451 根据当前对产品和工艺的理解而产生的一系列保证工艺性能和产品质量的有计划
452 的控制。这些控制可包括与原料药和制剂的物料与组分、厂房和设备运行条件、过程
453 控制、成品质量标准相关的参数和特性,以及相应的监控方法和频次。(ICH Q10)

454 联合验证

455 证明分析方法在不同实验室用于相同预期目的时,其符合预设的性能标准。联合
456 验证可涉及可能受实验室变化影响的所有(完全再验证)或部分(部分再验证)性能
457 特性。(ICH Q2)

458 关键质量属性(CQA)

459 指产品的物理、化学、生物或微生物性质或特征,应在适当的限度、范围或分布
460 之内,以确保预期的产品质量。(ICH Q8)

461 交叉验证

462 证明两个或多个分析方法符合相同的预设性能标准,因此可用于相同预期目的。
463 (ICH Q2)

464 检测限

465 某一分析方法的检测限是指样本中的被分析物能够被检测到的最低量,但不一定
466 要准确定量。(ICH Q2)

467 测定

468 根据验证方案,单个配制样品的单次或重复检测的报告值。(ICH Q2)

469 既定条件(ECs)

470 ECs是确保产品质量所必需的具有法律约束力的信息。因此,EC的任何变更都必
471 须提交给监管机构。(ICH Q12)

472 中间精密度

473 中间精密度是指实验室内部条件改变。考虑的因素应包括潜在的变异性来源,如不同
474 日、不同环境条件下、不同试验分析者、不同仪器等情况。(ICH Q2)

475 **知识管理**

476 收集、分析、储存和传递与产品、生产工艺和组分相关信息的系统性方法。

477 (ICH Q10)

478 **方法可操作设计区域 (MODR)**

479 分析方法参数的范围, 在该范围内操作能达到分析方法的性能标准, 从而确保了
480 检测结果的质量。(ICH Q14)

481 **持续监测**

482 分析方法性能数据的收集和评价, 以确保整个分析方法生命周期内检测结果的质量。
483 量。(ICH Q14)

484 **性能特性**

485 分析方法特征的一种技术性的独立描述, 以确保检测结果的质量。通常包括准确
486 度、精密度、专属性/选择性和范围。该术语以前称为验证指标。(ICH Q2)

487 **性能标准**

488 描述数值范围、限度或所需状态的可接受标准, 以确保检测结果的质量。(ICH
489 Q14)

490 **平台分析方法**

491 平台分析方法也叫多产品方法, 适用于检测不同产品的质量属性, 且其操作条
492 件、系统适用性和报告结构不会发生显著变化。这类方法适用于与平台方法拟检测的
493 属性非常相似的分子。(ICH Q2)

494 **精密度**

495 分析方法的精密度指的是规定条件下对均质样本多次取样进行一系列检测结果的
496 接近程度(离散程度)。精密度可以从三个层次考虑: 重复性, 中间精密度, 重现
497 性。分析方法的精密度通常以多次检测结果的变异性、标准偏差或变异系数来表达。
498 (ICH Q2)

499 **经证实的分析方法可接受范围 (PAR)**

500 指一个分析方法参数的范围。在保持其他参数不变的同时, 使分析检测结果符合相关性能

501 标准的分析方法参数的表征范围。（ICH Q14）

502 **质量风险管理**

503 在整个产品生命周期内评估、控制、沟通和回顾药品质量风险的系统过程。

504 （ICH Q9）

505 **定量限**

506 某一分析方法的定量限度是指在合适的准确性和精密度下，能够定量测定样本中
507 被分析物的最低量。一个分析方法的定量限不得高于报告限。它是样本中含量低的物
508 质定量测定的参数，特别适用于杂质和/或降解产物的测定。样本样本（ICH Q2）

509 **范围**

510 分析方法的范围是当该分析方法达到适当水平的精密度、准确性和响应值要求时，最低和
511 最高可报告结果之间的一个区间。（ICH Q2）

512 **可报告范围**

513 分析方法的可报告范围包括具有适合精密度和准确度的最低至最高可报告结果的
514 所有的值。通常，给出的可报告范围的单位与质量标准的单位相同。（ICH Q2）

515 **工作范围**

516 分析方法的工作范围是该分析方法可得出有意义结果的最低和最高浓度。样品制备前（样
517 品工作范围）和放入分析仪器时（仪器工作范围）的工作范围可能不同。（ICH Q2）

518 **实时放行检测（RTRT）**

519 指根据工艺数据评价并确保中间产品和/或成品质量的能力，通常包括已测得物料
520 属性和工艺控制的有效结合。（ICH Q8）

521 **重复性**

522 重复性是指在同样的操作条件下，在较短时间间隔的精密度；也称为间隙检测精
523 密度。（ICH Q2）

524 **可报告结果**

525 根据分析方法计算或处理并应用所述样品重复检测后产生的结果。（ICH Q2）

526 **重现性**

527 重现性是指不同试验室之间的精密度（如：试验室间研究，通常用于方法学的标准化）。

528 （ICH Q2）

529 响应

530 分析方法的响应是其通过某些已知的数学函数获得与样品中被分析物浓度（含
531 量）有效相关的信号的能力（在给定范围内）。（ICH Q2）

532 再验证

533 证明产品、工艺或分析方法本身变更后，分析方法仍符合其预期目的。再验证可
534 涉及所有（完全再验证）或部分（部分再验证）性能特性。（ICH Q2）

535 耐用性

536 分析方法的耐用性是衡量其在正常使用时符合预期性能要求的能力。通过故意变
537 化分析方法参数来检验耐用性。（ICH Q14）

538 样品适用性评估

539 如果样品的检测响应符合为验证分析方法制定的方法属性的预设可接受标准，则
540 认为样品或样品制备步骤适用。样品适用性和满意的系统适用性测试结果是获得有效
541 分析结果的先决条件。样品适用性通常包括对标准品和供试品之间响应相似性进行评
542 估，并可能包括样品基质不产生干扰信号的要求。（ICH Q14）

543 专属性/选择性

544 专属性和选择性均用于描述其他物质对指定分析方法测定某一物质的干扰程度。
545 其他物质可能包括杂质、降解产物、有关物质、基质或操作环境中存在的其他成分。
546 专属性通常用于描述最终状态，明确可以对目标分析物进行检测。选择性则是一个相
547 对术语，用于描述混合物或基质中特定被分析物可被检测且不受具有类似行为的其他组分干
548 扰的程度。（ICH Q2）

549 系统适用性试验（SST）

550 开发这些试验项目用于确认与分析方法相关的量测系统和分析操作是否足以适用
551 于预期分析，并可用于提高潜在失败的可检测性（ICH Q14）。

552 总分析误差

553 总分析误差（TAE）表示试验结果中归因于不精确和不准确的总误差。TAE是方
554 法系统误差和随机检测误差的总合。（ICH Q14）

555 验证研究

556 对既往知识、数据或专项实验的评价，以确定分析方法是否适合其预期目的。
557 （ICH Q2）

558 验证试验

559 为确定分析方法适用其预期目的而针对性进行的实验。（ICH Q2）

560 多变量术语表

561 校准数据集

562 涵盖目标操作范围的，已知特性和检测分析结果匹配的一组数据。（ICH Q2）

563 数据转换

564 为获得与输出数据更好的相关性并简化模型结构，而对模型输入数据进行的数学
565 运算。（ICH Q14）

566 独立样品

567 独立样品是指未包含在多变量模型校准集中的样品。独立样品可与所选校准样品为同
568 一批次。（ICH Q2）

569 内部测试

570 内部测试是检查模型分析的特定样本是否产生正确预测（定性或定量）的过程。

571 内部测试可用于确定潜变量的最佳数值、估算标准误差及检测潜在离群值。最好
572 使用未包含在校正集中的样品进行内部测试。或者，可以使用校准样品子集进行内部测
573 试，同时暂时将其从模型计算中排除。（ICH Q2）

574 内部测试集

575 从具有物理和化学特性的样本中获得的一组数据，其覆盖了与用于构建校准集的
576 样品相似的变异性范围。（ICH Q14）

577 潜变量

578 与检测变量直接相关并用于进一步分析的数学推导变量。（ICH Q2）

579 模型验证

580 通过使用独立的试验数据挑战模型，并将结果与预定标准进行比较来确定模型适
581 用性的过程。对于定量模型，验证包括使用独立数据集来确认校准模型的性能。对于
582 鉴别库，验证涉及对未包含在库中的样品（也称为挑战样品）进行分析，以证明库模型
583 的辨别能力。（ICH Q2）

584 模型维护

585 是多变量模型全生命周期的保障措施，用于确保持续的模型性能，通常包括离群
586 值诊断和由此引发的模型重新开发或变更维护计划的操作。（ICH Q14）

587 多变量分析方法

588 通过使用多个输入变量的多变量校正模型而确定结果的分析方法。（ICH Q2）

589 离群值诊断

590 能够在多变量分析方法中识别异常或非典型数据的测试。（ICH Q14）

591 参比方法

592 单独的分析方法，用于获得多变量分析方法中校准样品和验证样品的参考值。
593 （ICH Q2）

594 参比样本

595 可代表供试品、特性值已知且用于校准的样品。（ICH Q14）

596 验证集

597 用于对校准模型的性能进行独立评估的一组数据，理想情况是在相似的操作范围内
598 进行。（ICH Q14）

599

600 12. 参考资料

601 ICH Q2 Validation of Analytical Procedures

602 ICH Q8 Pharmaceutical Development

603 ICH Q9 Quality Risk Management

604 ICH Q10 Pharmaceutical Quality System

605 ICH Q12 Technical and Regulatory Considerations for Pharmaceutical Product
606 Lifecycle Management

607 ICH M4Q The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for
608 Human Use: Quality – M4Q

609 13. 附录

610 13.1 附录A-分析方法生命周期

611 本附录中提供的示例是用于说明目的的模拟示例。其建议如何应用ICH Q14中描
612 述的概念，且不应将其用作提交给监管机构的模板或唯一依据。

613 创建示例说明

- 614 • 如何在ATP中总结从产品背景和知识中得出的分析方法性能特性
- 615 • 如何应用ATP中描述的性能特性选择合适的分析技术，指导分析
616 方法的开发，并帮助制定分析方法控制策略
- 617 • ATP中描述的性能特性如何有助于分析方法验证研究的设计
- 618 • 如何使用增强方式识别开发的分析方法的EC
- 619 • QRM和遵守相关性能特性的相关标准和/或后续执行桥接研究如何
620 确保检测结果的变更后质量，并有助于证明分析方法的EC和批准后变更管理
621 相应报告类别的合理性

622 如第4节所述，QRM可用于评价分析方法拟定变更的影响。以下段落描述了风险
623 因素和风险降低措施的示例，以识别与分析方法变更相关的风险。风险评估的结果
624 （风险水平：高、中或低）纳入支持变更所需研究的设计和范围

625 选定风险（风险因素）

- 626 • 检测的相关性
 - 627 • 检测属性（有效性、安全性、药代动力学和免疫原性）的潜在临床影响，
 - 628 例如，控制CQA与非CQA
 - 629 • 对属性的了解程度
 - 630 • 控制系统其他要素涵盖的属性（测试或过程控制）
- 631 • 技术的复杂性
 - 632 • 简单技术与复杂技术
 - 633 • 平台技术
 - 634 • 新技术与成熟技术（如药典中的技术）
 - 635 • 报告为总和的几个属性（例如，大分子的电荷变异体）
 - 636 • 生物试验、基于细胞的试验、免疫化学试验
 - 637 • 多属性分析
 - 638 • 多变量分析
- 639 • 变更程度
 - 640 • 变更MODR/PAR内的一个或多个参数
 - 641 • 超出已证实范围的一个或多个参数的变更
 - 642 • 现有分析方法性能特性范围内的分析方法变更
 - 643 • 分析方法性能特性的变更（例如，由于质量标准限度收严或方法预期目的
 - 644 变更而测定其他属性）

645 降低风险

646 降低风险在ICH Q9中定义为为降低损害发生概率和损害严重程度而采取的措施。

647 不同种类的知识信息可降低风险，例如：

- 648 • 产品和工艺知识信息
 - 649 - 产品/活性物质的CQA及其可接受范围的知识信息
 - 650 - 涵盖CQA/与CQA相关的经充分论证的AP性能标准及其可接受范围

- 651 - 生产工艺CPP的知识信息，包括对CQA过程控制能力的风险评估
- 652 - 通过工艺参数设置控制CQA的证据
- 653 - 通过对相关强制降解样品进行分析得到证实的降解途径（知识信
- 654 息
- 655 - 其他产品知识信息（例如杂质谱、粒度和粒度分布）
- 656 • 分析方法理解和分析方法控制策略
- 657 - 分析方法参数及其对测量性能影响的知识信息
- 658 - 经证实的分析方法耐用性，例如协调统一方法（药典收载检测）
- 659 - 支持可接受范围（例如PAR、MODR）合理性的进一步方法理解
- 660 （例如DoE研究），以确保结果的质量
- 661 - 分析方法开发的其他知识信息
- 662 - 系统适用性试验涵盖相关分析方法属性
- 663 - 持续监测方法结果
- 664 - 信号与待检测CQA之间的明确联系（例如，可用峰表征、专属
- 665 性）
- 666 • 实际变更的后续桥接策略
- 667 - 充分表征的物质、相关历史和/或强制降解样品的可用性，以支持评估方
- 668 法结果是否符合根据性能要求（证明具有控制CQA的能力）
- 669 - 与先前方法的结果进行比较（潜在差异风险的理解和接受）
- 670 - 证明已了解与参数变更以及与其他参数潜在相互作用相关的风险
- 671 （如适用）
- 672 - 具有类似变更、分析物或技术的既往经验或文献
- 673 - 参考以前的文件或平台分析方法（如适用）。

674 13.1.1 小分子原料药（DS）中作为特定工艺杂质的立体异构体测定

675 引言与背景

676 “Sakuratinib Maleate”是一种具有多个手性中心的小分子DS。对分子的手性、降解
677 途径和杂质进行了充分表征。根据该信息和已确立的生产工艺控制，发现成品中可能

678 存在5种立体异构体（杂质A-E）。基于毒理学考虑，规定杂质A-E不得过0.1%。发现1
 679 个立体异构体F为工艺相关杂质，但不是降解产物。根据毒理学数据，规定立体异构体
 680 的放行和复检结果不得过0.5%。杂质G-J是其他工艺相关杂质，其中工艺杂质J也是DS
 681 的降解产物。分离所有特定杂质，并可作为充分表征物质用于方法开发和验证。

682 **表1：分析目标概况：**

预期目的		
用于放行检测的Sakuratinib Maleate API中立体异构体A-F的定量。		
与CQA（手性纯度）的关系		
分析方法应允许单独定量立体异构体和测定立体异构体A-F的总和，以确认CQA手性纯度 $\geq 99.0\%$		
可报告结果的特征		
特征	可接受标准	依据
性能特性		
准确度	含杂质A-E的加标DS的平均回收率为80-120% 含杂质F的加标DS的平均回收率为90-110%	根据四舍五入得出这些数值重要性的考虑得出这些标准值。在质量标准水平为0.1%时，20%偏差将导致0.02%的分析结果变化，这对于放行决策是可接受的。 以类似的方式推导出精密度值。根据报告结果并考虑任何校正因子或响应因子，设定准确度的回收率标准。
精密度	杂质A-E 中间精密度RSD (n ≥ 6) : 杂质A-E $\leq 15\%$ 杂质F $\leq 10\%$	
专属性	分析方法必须证明在化学合成过程中可能产生其他工艺或DS降解产物（杂质G-J）和成盐剂存在的情况下，以不超过0.01%的可接受偏差对杂质A-F进行定量。	样品中其他常规组分对特定杂质定量的潜在干扰
可报告范围	杂质A-E：至少0.05-0.12% 杂质F：至少0.05-0.6%	报告阈值至质量标准限度的120%

683

684 初始技术选择

685 可采用多种手性分离分析技术：使用不同的手性分离原理建立了气相色谱法
686 (GC)、液相色谱法 (HPLC)、超临界流体色谱法 (SFC) 和薄层色谱法 (TLC)
687 等色谱方法。最近，毛细管区带电泳 (CZE) 和毛细管电泳色谱法 (CEC) 成为色谱
688 方法的替代方法。除了符合所需性能特性外，在选择开发技术时，还根据当时公司的
689 一般技术知识、操作需求、设备可用性和能力考虑了更多实际标准：

- 690 • 技术的复杂性和耐用性
- 691 • 分析时间和成本
- 692 • 技术标准化和多个仪器供应商的可用性
- 693 • 公司现有的专业知识

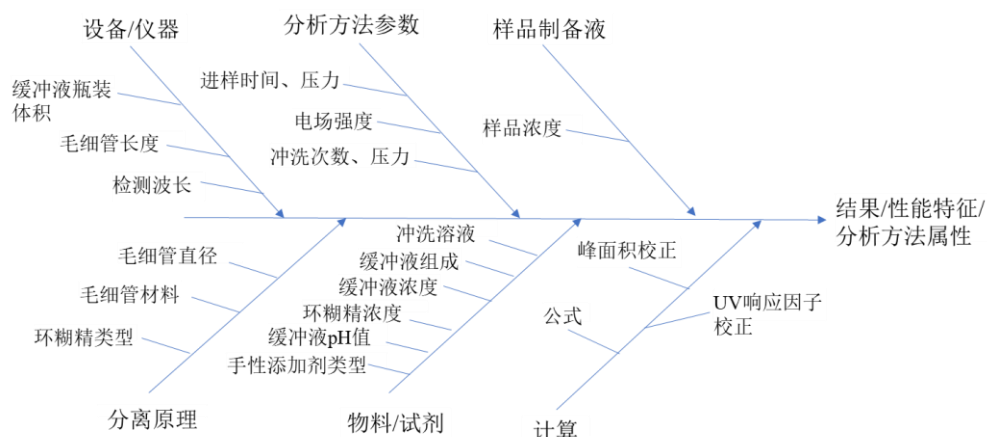
694 最终得出结论，使用两种技术开始方法开发：手性HPLC和CZE。作为检测模式，
695 选择UV检测，因为已知该分子具有足够的UV吸收特性，并且当时两种分离技术均具
696 有标准。

697 分析方法开发

698 在初始开发时，在对HPLC和CZE技术进行了首次筛选。鉴于当时可用的技术和色
699 谱柱，只有CZE能够符合ATP中描述的专属性预期性能，其为方法开发的主要终点。
700 因此，在初始开发时终止了HPLC方法开发。

701 对开发的CZE方法进行了风险分析。确定了无法合理排除对方法性能产生影响的
702 参数。参见下面的石川图：

703 图1: 石川图



704

705 研究了分析方法参数，并评价了其对性能的影响。对照性能特性优化并确认了
 706 CZE方法的耐用性。最终，在QL灵敏度峰面积、迁移时间和校正峰面积的重复性、
 707 API和立体异构体的色谱峰拖尾以及分离缓冲液消耗方面对分析方法进行了优化。基
 708 于开发结果，在分析方法描述“Sakuratinib Maleate中立体异构体A-F的测定”中给出了详
 709 细说明，并根据相对迁移时间分离度、LOQ、进样重复性和DS峰不对称性建立了
 710 SST，作为分析方法控制策略的一部分。

711 表2: 分析方法描述

毛细管:	无涂层熔融石英，直径50 μm，长度至少70cm
分离缓冲液:	13.2 g/l磷酸铵溶液，用磷酸调节pH值至6.0后，过滤并加100 mM β-环糊精，将分离缓冲液加至毛细管的两端
冲洗步骤:	1M氢氧化钠、水、0.1M氢氧化钠，每个步骤在1 psi下至少冲洗2分钟
柱温:	30°C
进样:	进样供试品溶液 (a) 和标准品溶液；在约0.5 psi下至少进样3 s，然后进样CZE缓冲液2 s
分离场强和极性	217V/cm，常规模式
检测	UV 214 nm

712 方法验证

713 分析方法描述完成后，根据ICH Q2的建议，计划进行技术特性验证研究。根据性
 714 能特性，从性能特性中推导出的一组技术和方法相关的属性和标准：

715 • 在100%水平的DS盐形式加标3个水平的杂质A-E（0.05%、0.1%和
716 0.12%）、杂质F（0.05%、0.5%和0.6%），测定准确度并计算平均回收率。结果
717 符合可接受标准，即平均回收率分别介于80-120%之间和90-110%之间。

718 • 在质量标准限度下，分别制备6份含有6种立体异构体的溶液以测定精密
719 度（重复性）。结果符合迁移时间校正峰面积精密度的可接受标准，即RSD分别
720 应为15%（杂质A-E）和10%（杂质F）。同样，在ANOVA实验中，对操作员、日
721 期和仪器之间的中间精密度进行了检测以及评价。

722 • 通过将所有6种立体异构体加标至API盐形式和杂质G-J中证明专属性，证
723 明各目标分析物之间具有足够的基线分离度（峰之间无可检出的偏差）且没有工
724 艺相关杂质的干扰。此外，将缓冲液和水的空白进样溶液与样品溶液进行比较，
725 以证明对分析物检测无干扰。

726 • 为确认可报告范围，进行了一项线性、QL和DL实验，并与技术特性可
727 接受标准进行了比较：

728 • 对于所有立体异构体，确认DL的信噪比均高于3:1

729 • 通过证明报告阈值下立体异构体校正峰面积的RSD不得过10%确认
730 QL

731 • 通过证明所有杂质和原料药在0.05-2.0%范围内的6个立体异构体浓
732 度水平下相关系数R大于0.998，确认线性可接受。选择了更宽的浓度范围，
733 以便将该方法可应用于更宽的范围，并可以更精确地测定相对UV响应因子

734 • 将立体异构体的线性斜率与原料药的线性进行比较，以证明各立体
735 异构体相对于原料药的UV响应因子约为1.0。

736 进行验证研究后，在验证报告中总结了结果，得出的结论是分析方法符合分析方法
737 属性的可接受标准。符合相关性能特性。总之，分析方法适用于预期目的。

738 既定条件（EC）、报告类别和制定依据说明

739 基于对产品和工艺的理解，并考虑到方法开发数据和风险评估结果（见本附件的
740 引言），申请人在初始提交的文件中拟定了既定条件和报告类别。变更报告类别的制
741 定依据包括遵守ATP中描述的预定义可接受标准和其他性能控制（例如，系统适用性

742 试验和对照品)。

743 注：本表中列出的EC数量和相关报告类别可能取决于获得知识和提供信息的程
744 度，并且仅针对该特定示例生成。本示例中提供的信息并不是所有可用的及将提交给
745 监管机构的信息，不应将其作为通用指南。EC的范围、实际报告类别和数据要求可能
746 因地区而异。在某些情况下，其他未确定为EC的参数和条件（见下表）可能在某些地
747 区要求作为EC。对其他技术的变更可能会引发不同的风险，从而产生不同的报告类
748 别。某些情况下（例如，技术之间的变更）可能需要PACMP，具体视地区而定。

749 表3：增强方式中应用ICH Q12原则的拟定既定条件和报告类别

既定条件	总体风险类别	ICH Q12报告类别	理由/依据
分析目标概况 (ATP)	高风险	PA	如果需要扩大ATP范围，则报告为PA。
技术：毛细管区带电泳-UV检测 合适的手性分离技术，以满足ATP中定义的性能特性	低风险	NL	通过控制策略和明确的桥接策略（见下文）确保遵守ATP，以评估变更的影响。对方法原理的变更将报告为NL。对产品知识、预期目的和既定分析方法性能之间的关系形成了充分理解。此外，具有已充分表征的分析物和稳健的方法开发数据集可以在具有相似分离能力的技术（例如CZE至手性HPLC）之间进行良好控制的桥接。
技术特性分析方法属性	低风险	NL	准确度和精密度（见ATP） 专属性：对于杂质A-F、DS、成盐剂和分组杂质G-J的基线分离，R不低于2.0。杂质G-J之间不需要进行基线分离 线性：R不低于0.990，在0.05%-2.0%范围内至少5个点 DL杂质A-F：当水平低于0.05%时，S/N不低于3:1 QL杂质A-F：当水平为0.05%时，S/N不低于10:1
系统适用性试验和参数-控制关系	低风险	NL	基于与ATP中描述的性能特性一致的风险

ICH Q14指导原则

既定条件	总体风险类别	ICH Q12报告类别	理由/依据
<p>作为总体分析方法控制策略的一部分：</p> <p>SST 1: 验证分析方法中所列分析物的相对迁移时间。DS的不对称因子≤ 1.5，受控因素：</p> <p>电场强度 清洗剂及次数 分离缓冲液浓度和pH 有效毛细管长度 毛细管材料 手性缓冲液添加剂类型和浓度</p> <p>SST2: 关键峰对之间的分离度： API主峰和杂质D≥ 2.0，受控因素：</p> <p>手性缓冲液添加剂类型和浓度 缓冲液组成 缓冲液pH 进样时间/压力 (=体积) 标准品/供试品溶液浓度</p> <p>SST3: 在LOQ时，水平为0.05%的API的S/N$> 10:1$，受控因素：检测进样时间和压力 样本和标准品浓度</p> <p>SST 4: 当水平为0.5%时，API进样的重复性$\leq 5\%$，受控因素：进样参数 缓冲液过滤</p>			<p>分析，为CZE方法建立了SST。SST标准侧重于分析方法常规应用期间的关键性能特性。通过先验知识（技术的基本原理）或在方法开发期间建立了控制关系。见下文所述参数的更多详细信息。</p> <p>SST的变更必须确保可以类似或更好地控制左列中列出的相关要素。</p>
<p>分离原则：毛细管：材料：无涂层熔融石英毛细管（直径$\phi=50\mu$</p>	<p>低风险</p>	<p>NL</p>	<p>毛细管材料、直径和手性试剂是确定分离机制和组分迁移顺序的主要参数。变更这</p>

ICH Q14指导原则

既定条件	总体风险类别	ICH Q12报告类别	理由/依据
m) 和β-环糊精 适当的仪器、进样和缓冲液条件，以符合SST要求			些参数可能导致SST的调整，因此提出了报告类别与SST一致。已证明SST 1和SST 2可对参数进行控制，因此具有高可检测性，且与这些参数变更相关的总体风险归类为低风险。
以下条件不是本示例中的EC：			
缓冲液条件 化学品（药典级） 分离缓冲液（CZE）：13.2 g/l磷酸铵溶液，用磷酸调节pH值至6.0后，过滤并加100mM β-环糊精	低风险	-	耐用性研究期间，缓冲液pH（+/-0.5）、磷酸铵浓度和环糊精浓度（+/-10%）的变化对分析方法性能无影响。开发期间证明了参数与SST1和SST2之间的关系。相关数据包含在分析方法验证报告中。
仪器条件：检测：214 nm（UV） 电场强度：217 V/cm 温度：30℃ 分离：毛细管两端的分离缓冲液 毛细管有效长度=至少70cm	低风险	-	耐用性研究期间，毛细管温度、缓冲液浓度和检测波长（大约+/-10%）的典型变化对分析方法性能无影响。数据包含在分析方法验证报告中。电场强度、电压和毛细管长度之间的关系与先验知识的科学关系一致 ¹ 在方法开发期间，证明了SST1-3可指示正确的分离条件。相关数据包含在分析方法验证报告中。
毛细管冲洗条件：1M氢氧化钠、水、0.1M氢氧化钠 仪器参数， 冲洗时间：压力大于1 PSI，每个步骤至少冲洗2分钟	低风险	-	方法开发期间，选择冲洗时间以使毛细管表面达到平衡的同时，在较宽冲洗时间范围内（即+/-0.5分钟）不影响迁移时间。压力、毛细管长度和冲洗体积之间科学关系明确，允许在不同设备之间进行调节 ^{1错误！未指定书签。} 方法开发期间，证明了SST1可指示正确的冲洗条件。相关数据包含在分析方法验证报告中。
样品分析：进样供试品溶液（a）和对照品溶液；在大约0.5 psi的压力下，进样至少3 s，然后再进	低风险	-	压力、毛细管长度和进样体积之间科学关系明确，允许在不同设备之间进行调整 ¹ 。方法开发期间，证明了SST1-3可指示正确

既定条件	总体风险类别	ICH Q12报告类别	理由/依据
样CZE缓冲液2 s。			的进样条件。相关数据包含在分析方法验证报告中。
API对照品：供试品溶液和对照品溶液的浓度：1 mg/ml API水溶液	低风险	-	通过验证时的线性实验证明了可报告工作范围内的性能。基于明确的科学原则（Beer-Lambert定律），通过SST3确立了低浓度范围控制。浓度上限受样品离子强度的影响，且离子强度、场强、焦耳热和由此产生的谱带增宽之间存在明确的科学关系 ² 。与SST1和SST2建立了控制关系

750 ¹协调统一后的药典毛细管电泳章节，如欧洲药典2.2.47，美国药典<727>，日本药典（毛细管电泳
751 通则）

752 ² M. I. Jimidar, Capillar Electrophoresis Methods for Pharmaceutical Analysis, Volume 9, 2008, 9-42
753 ISSN: 0149-6395

754

755 变更评估和桥接策略

756 假设上表中的信息（EC和报告类别）已事先与监管机构达成一致。

757 MAH将对各项变更进行结构化风险评估，以评估对相应ATP中定义的性能特性和
758 与CQA（纯度）的联系潜在影响。作为风险评估的潜在结果，将进行实验性桥接研
759 究，以证明对性能特性和相关标准的依从性。如有必要，该研究可包括受变更和/或代
760 表性样品和对照品比较分析影响的分析方法性能特性的部分或全部（再）验证。

761 MAH承诺，如果桥接研究不能证明分析方法符合ATP中定义的性能特性和相关标
762 准，则不会按照预定义报告类别实施修改后的分析方法。如果不能满足符合ATP的先
763 决条件，则会申请更高的报告类别。

764 变更描述和管理

765 以下情况对批准后变更示例进行了阐述，并说明了MAH在实际实施变更时应遵循
766 的步骤。

767 变更#1：缓冲液pH变更

768 背景:

769 该公司日常使用过程中, 对立体异构体的迁移时间进行了监测和趋势分析, 发
770 现将缓冲液pH值从6.0变更至6.5, 可以以更稳定的方式重现迁移时间。

771 应用增强理解

772 采用增强方式的要素 (理解SST1与方法性能、方法控制策略之间的关系) 确定缓
773 冲液pH值与SST1和SST2之间的控制关系, 如提交的文件所述。

774 风险评估:

775 预期变更为对分析方法参数进行的变更, 在遵守承诺 (即参数不是EC) 的前提
776 下, 同意在公司质量体系内对该变更进行管理。

777 *a) 变更对患者、产品和生产工艺的风险 (试验相关性):*

778 该产品已被证实是安全有效的。产品现行控制策略适用, 且不会受到变更的影
779 响。因此, 手性杂质的质量标准保持不变。

780 *b) 技术的复杂性:*

781 CZE是一种成熟的技术, 可通过数学方程式预测缓冲液pH值和离子强度与分析物
782 和毛细管表面ZETA电位的关系。

783 *c) 变更对分析方法性能的风险 (变更程度)*

784 由于是对缓冲液pH值作出微小调整, 故变更程度小。

785 决策树问题#1: 根据对产品和方法的知识以及理解, 拟定变更对报告结果的风险
786 是什么?

787 回答: **低风险**

788 决策树问题#2: 申报资料中是否规定了确保变更后测定结果质量的相关性能特性
789 的标准?

790 答案: 是

791 变更后分析方法性能证明

792 由于缓冲液pH值与SST1和SST2之间建立了明确的控制关系, 因此证明其符合SST

793 标准以及符合ATP中的相关性能特性和相关标准是恰当的。

794 结论

795 根据初始风险评估以及SST1和SST2的额外控制，认为变更缓冲液pH值的风险非
796 常低。

797 拟定监管报告

798 实施实际变更所执行的步骤确认了与监管机构的原始协议（即该参数不是EC）。
799 因此，无需向监管机构报告。公司将在PQS中记录该变更。

800 **变更#2：从手性CZE变更为手性HPLC**

801 背景

802 随着手性色谱柱技术的进步，公司可最终确定适合预期用途的HPLC色谱柱和条
803 件。公司拟在其他生产地点实施API立体异构体控制分析方法，用于放行终产品。公
804 司的策略是采用现行（CZE）并将未来（HPLC）分析方法当作替代方法使用。在替代
805 开发中以成熟的手性HPLC技术为目标，以使小分子原料药可使用更加标准化的技术平
806 台。预期变更与产品的任何质量问题或现有CZE程序无关，本公司不打算修改手性杂
807 质的质量标准。

808 应用增强理解

809 预期变更既不会影响ATP中描述的已确立的产品理解，也不会影响预期分析方法的
810 性能。此外，分析技术的基本原理已作为一般方法在药典中进行了描述。技术和分
811 析物性能可预测。对产品、分析物和样品制备进行了充分表征和理解。采用增强方式
812 的要素（如ATP和风险评估中所述SST与分析方法性能之间的明确关联性）以利用控
813 制策略。用于CZE方法开发的相似增强方法也将应用于HPLC方法的开发。

814 风险评估：

815 预期变更为技术变更，根据做出的承诺，将其作为EC，报告类别为NL。

816 *a) 变更对患者、产品和生产工艺的风险（试验相关性）：*

817 该产品被证实是安全有效的。认为产品现行分析控制策略适用，且不会受到变更
818 的影响。因此，手性杂质的质量标准保持不变。

819 *b) 技术的复杂性:*

820 只包含成熟的分离技术（HPLC和CZE）。

821 *c) 变更对分析方法性能的风险（变更程度）*

822 通过准确度、精密度、专属性和结果范围分析描述了分析方法用于其预期目的的
823 性能。预期变更可能影响分析方法的性能。因此，公司使用分析目标概况作为前期控
824 制要素，以降低变更风险。

825 决策树问题#1: 根据对产品、方法的知识 and 理解，与报告结果拟定变更相关的风
826 险是什么？

827 回答: **中风险**

828 决策树问题#2: 申报资料中是否规定了确保变更后检测结果质量的相关性能特性
829 的标准？

830 答案: 是

831 变更后分析方法性能证明

832 将通过建立技术性验证方案和可接受标准对该方法进行验证。根据ICH Q2（R2）
833 附录2示例分离技术，对分析方法进行验证。将根据ATP定义验证的可接受标准，这一
834 标准将使技术性试验和标准更加贴合且严格。本公司具有完善的质量体系，可确保:

- 835 • 适当的分析变更控制和风险评估
- 836 • 一旦选定所使用的技术，将根据ATP制定合适的验证试验和标准
- 837 • 仅使用并实施符合ATP中描述的性能标准的分析方法
- 838 • 因此，在使用方法进行常规分析之前，将始终保证相应的分析方
839 法性能。

840 结论

841 基于初始风险评估和相关控制，认为使用HPLC方法作为CZE方法的替代方法的风
842 险较低。鉴于附加评估和开发/验证数据，确认了原始拟定的NL报告类别。

843 拟定监管报告

844 根据表3与监管机构达成的相关报告类别的原始EC，经实施实际变更步骤的结果
845 得到了确认，因此该变更将作为低风险通知提交。

846 13.1.2 抗TNF- α 单克隆抗体的效价测定

847 引言与背景

848 所给示例是指放行时和稳定性试验中测定原料药和制剂中抗TNF- α 单克隆抗体的
849 相对效价。

850 除进行产品CQA测定外，效价测定是生物制品放行质量标准检测组的独特特征。
851 通过效价测定的生物活性描述了产品达到规定生物效应¹的特定能力。通常，复杂分子
852 的理化信息可能很丰富，但其高阶结构无法确认，这种情况下可根据生物活性推断¹。

853 鉴于本示例的目的，假设药物的作用机制是通过阻止TNF- α 与TNF- α 受体结合而中
854 和可溶性TNF- α 的生物活性。Fc效应子功能不在本示例描述的测定范围内。鉴于本示
855 例的目的，假设相对效价的质量标准限度为产品标准品活性的80%-125%。

856 在开发过程中，强制降解研究突出显示了分子结构的一些变化，这些变化在进行
857 理化试验后得到了证实。待开发的效价测定法应能够检测强制降解后的效价变化和/或
858 转变。

859 用于生成可报告结果的方法的性能特性包括准确度、精密度、专属性和可报告范
860 围。精密度评价涉及分析方法变异性的关键来源的变化，如分析员、日期、关键试剂
861 （包括细胞培养参数，如适用）、关键设备。

862

¹ICHQ6B-质量标准：生物技术/生物制品的试验程序和可接受标准。

863 表4: 分析目标概况

预期目的		
在放行时和稳定性试验中测定原料药和制剂中抗TNF- α 单克隆抗体的相对效价。		
与CQA关联（生物活性）		
药物的作用机制是通过阻止TNF- α 与TNF- α 受体结合而中和可溶性TNF- α 的生物活性。该测定法应能够测定药物的效价，并检测强制降解条件下生物活性是否发生显著变化。		
可报告结果的特征		
特征	可接受标准	依据
性能特性		
准确度	通过涵盖可报告范围的线性实验（来评估相对准确度 ¹ 。在测定的相对效价范围内没有观察到相对偏差的趋势。 理论效价值与实测值之间拟合回归线斜率的95%置信区间在0.8-1.25范围内。 鉴于测定的预期目的，在各效价水平下计算的相对偏差的90%置信区间上限和下限不得超过20% ² 。	根据药典指南（如USP <1033> ³ ）对参数进行评估 选定的性能特性确保使用预期方法可提供合格的报告结果。
精密度	鉴于试验的预期目的，可报告范围（95%CI几何变异系数（%） ⁴ ）内各水平平均中间精密度的95%置信区间上限不得过20% ⁴ 。	
总分析误差（TAE）³ （准确度和精密度分别评估的替代方法）	可使用不同的统计指标评价方法的能力，例如TAE（检测的准确度和精密度）与质量标准限度的比较。 ⁵	方法开发期间，质量标准限度可能为目标限度，而对于商业产品，质量标准限度为拟定质量标准。
专属性	方法对活性成分的预期作用机制具有专属性。	生物试验的关键特征，以确保对目标生物活性的专属性。
	无工艺相关杂质或基质组分的干扰。	例如，工艺相关杂质和基质组分不会对剂量反应曲线的特征造成显著影响。
	试验具有稳定性，这表明方法可用于检测效价变化和/或剂量反应曲线形状变化，采用强制降解样品（例如进行有意义的热、光稳定性和氧化强制	确保产品在其有效期内符合质量标准（例如，保持所需安全性和有效性）。 ⁵

	降解的样品) 进行确认。	
可报告范围	相对效价范围是指符合准确度和精密度要求的范围。其必须至少包括质量标准范围(例如, 在这种情况下, 质量标准范围(80%-120%)对应于相对效价质量标准(80%-125%)的64%-150%)	证明了所需准确度和精密度特征的声明范围。

864 ¹相对效价试验的相对准确度是指测定的相对效价与已知相对效价之间的关系。USP<1033>生
865 物试验验证中的定义, 2017年5月。

866 ²单个值仅作为示例, 具体因产品而异。

867 ³USP <1220>分析方法生命周期。USP-NF 2022第1版; USP <1210>方法验证用统计工具以及其
868 中的参考文献; P.Jackson P. Jackson et al., Anal. Chem. 2019, 91, 4, 2577–2585

869 ⁴USP <1033>生物试验验证, 2017年5月

870 ⁵该方法的适用性取决于开发阶段和/或工艺性能的先验知识。

871 **技术选择:**

872 一般注意事项

873 基于上述ATP, 如本示例所示, 现有的几种技术可能是检测抗TNF- α 重组蛋白相
874 对效价的合适选择。

875 通常, 用于测定效价的分析技术会在生物产品的产品生命周期内不断发展, 在开
876 发出更具技术挑战性的特定细胞试验方法之前, 通常先使用基于ELISA的技术。这两
877 种方法依赖于活性物质与可溶性TNF- α 的结合。虽然ELISA信号直接测定抗体结合, 但
878 基于细胞的试验可能针对后期信号级联放大的下游事件。

879 基于细胞的生物试验可遵循几种试验方法。对于抗TNF- α 药物, 包括中和试验,
880 该试验中测定药物存在条件下可溶性TNF- α 诱导细胞毒性和细胞凋亡的程度。此外,
881 还可以使用报告基因试验等其他形式。

882 如果技术平台发生变更, 上述ATP也可用于风险评估。

883 具体示例: 细胞增殖试验

884 在本示例中, 选择用于测定抗TNF- α 重组蛋白相对效价的基于细胞的试验形式为
885 中和细胞增殖试验。假定在该本示例中不涉及Fc效应子功能。

886 采用基于药物对可溶性TNF- α 生物活性的抑制作用的相应细胞试验(具有用于评
887 估抑制作用的适当读数), 通过比较待测样品与类似标准品稀释液的稀释度来测定效

888 价。因此选择了细胞增殖试验。本试验能够监测TNF- α 诱导的对应答细胞系（例如，
889 鼠纤维肉瘤WEHI-164）增殖的抑制作用。本试验比较了供试品与指定标准品的剂量反
890 应，以定量测定相对效价。在存在TNF- α 的条件下，使用稀释度不同的供试品和标准
891 品对细胞进行温育。使用四唑盐（通过细胞脱氢酶转化为有色甲瓩产物），通过染色
892 方法对细胞的生长进行评估。使用分光光度计在450 nm和650 nm处测定释放的甲瓩。
893 分光光度响应与活细胞数量成正比。

894 细胞增殖技术的通量仅限于每天少量样品。在多个日期对数个96孔板进行检测。
895 分析方法开发期间，将确定生成有效可报告结果的平板运行数量。运行本方法所需的
896 设备为生物试验实验室常用设备。使用这些设备的分析员均接受过生物试验培训，因
897 此不存在特定的操作或安全性问题。

898 分析方法开发

899 基于对分子和相对效价试验的广泛了解，开发了所述分析方法。

900 建立效价试验时考虑以下几点：

901 - ATP中定义的试验目的和背景：

902 °基于CQA评估和工艺表征，申请人对可能影响CQA（药物的相对效价）
903 的相关因素有广泛了解，并且已经确立了作用机制（MOA）和临床性能之间的
904 的联系。根据这些数据，为效价试验选择了适当的细胞系和抗原结合条件。

905 °通过有助于理解分子和结合特性（例如Fc效应子功能）的其他功能和/或
906 理化试验对该分子进行表征。在药物的生命周期中，还连续使用了其他表征分
907 析。

908 °定义分析方法的性能特性（例如，通过TAE），以支持质量标准可接受
909 标准。

910 °将计算样品的相对效价，并与相同分析中得到的充分表征材料（例如，
911 标准品）的信号进行比较。

912 - 从开发研究和先验知识中对相关知识有了广泛的了解，具体为：

913 °**细胞系及其性能**（活力、培养条件、细胞密度、细胞系稳定性（例如，
914 最小和最大传代次数））。在分析方法开发过程中，证实了确保适当细胞代谢

915 的细胞培养条件的耐用性。

916 在开发过程中定义了融合和细胞活力的标准，以确保所需的细胞代谢，
917 以及得到适当的信号幅度和剂量反应曲线。

918 为确定合适的**TNF α 溶液**（抗原），这种溶液在标准品或供试品存在的
919 情况下，可产生**分光光度法可检测的S形剂量反应曲线**，下渐近线和上渐近线
920 分别对应于阴性和阳性对照品，已经广泛开展了研究。

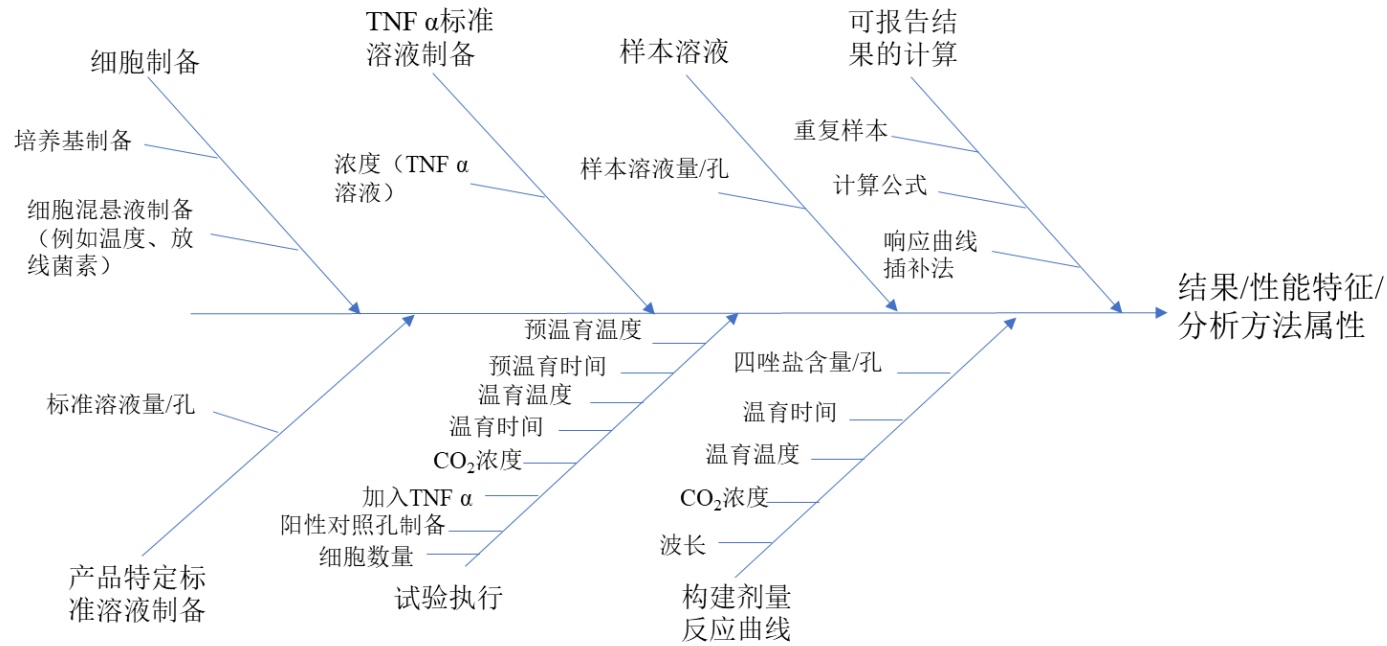
921 已对试验条件进行了研究，并确定了影响分析性能的参数

922 开发系列稀释水平以优化剂量反应曲线，例如，确保至少3个点在剂量-
923 反应曲线线性段和每条渐近线至少2个点。

924 对方法中使用的标准品的相对效价进行了确认，并确立了有关其性能的
925 标准，以确保运行间变异性保持在适当限度内。

926 QRM原则用于指导开发研究的设计。风险评估期间考虑的特征如图2所示。

927 图2: 石川图



928

929 适当时，在单个步骤的评估过程中，需考虑PQS要求（例如设备鉴定、操作员培训）、人为因素、材料变异性、环境控制

930

931 表5: 开发数据和风险评估总结

单元操作	方法参数	定义的目标或范围	研究范围	依据	风险*
细胞制备	细胞密度 (细胞数量/mL)	1×10^6 个细胞/mL	目标值的50-150%	确保试验具有适当的灵敏度	中风险
	放线菌素D ($\mu\text{g/mL}$)	2 $\mu\text{g/mL}$	1-3 $\mu\text{g/mL}$	试验中使用放线菌素D以增强细胞对TNF的敏感性, 并确保试验的灵敏度适当。	中风险
	细胞活力	不低于80%	70-100%	确保试验的灵敏度适当	中风险
TNF α 标准品溶液制备	TNF α 标准溶液的浓度	目标工作浓度	目标工作浓度的50-150%	确保抗TNF药物的效价测定适当	低风险
标准品/对照品	稀释因子	目标范围	目标范围	确保抗TNF药物的效价测定适当	低风险
试验执行	加入的细胞数量 (μL)	50 μL	25 μL 至75 μL	确保试验反应所需的细胞混悬液体积适当	低风险
	预温育时间 (小时)	1小时	0.5至1.5小时	结合温育条件以生成适当的剂量反应曲线	低风险
	预温育温度 ($^{\circ}\text{C}$)	37 $^{\circ}\text{C}$	35-38 $^{\circ}\text{C}$	结合温育条件以生成适当的剂量反应曲线	低风险
	CO ₂ 浓度 (%)	5%	3-7%	结合温育条件以生成适当的剂量反应曲线	低风险
	温育时间 (小时)	20至24小时	16至30小时	结合温育条件以生成适当的剂量反应曲线。为便于操作, 将目标时间定在20至24小时之间	低风险

932

ICH Q14指导原则

	温育温度	37°C	35-38°C	结合温育条件以生成适当的剂量反应曲线	低风险
	CO ₂ 浓度 (%)	5%	3-7%	结合温育条件以生成适当的剂量反应曲线	低风险
剂量反应曲线	四唑盐加入量 (复溶溶液量 (μL))	10 μL	5 μL至15 μL	进行比色反应和甲瓚形成所需的盐	低风险
	温育时间	3至4小时	2至5小时	调整温育持续时间以确保甲瓚的最佳形成。结合温育持续时间和温育温度	低风险
	温育温度	20°C	15-25°C	调节温育温度以确保甲瓚的最佳形成。结合温育持续时间和温育温度	低风险

933 *风险是指对可报告结果的影响 (鉴于已确立的控制 (例如, 满足SST))

934 分析方法描述²

935 设备:

- 936 - 96孔板
- 937 - 组织培养瓶
- 938 - CO₂温育器
- 939 - 生物安全柜
- 940 - 酶标仪

941 溶液和试剂:

- 942 - WEHI-164细胞 (ATCC)
- 943 - TNF- α 溶液:
 - 944 ° 根据供应商的说明溶解一瓶TNF- α 中的内容物。用试验培养基进
 - 945 一步稀释, 以获得适当的工作标准品浓度。细胞对TNF- α 的响应各不相
 - 946 同, 使用TNF- α 剂量反应曲线确定合适的TNF- α 浓度 (例如ED₈₀)。
- 947 - 试验培养基由RPMI 1640、L-谷氨酰胺、热灭活胎牛血清
- 948 (10% v/v) 和青霉素/链霉素溶液 (1% v/v) 组成
- 949 - 放线菌素D
- 950 - 四唑盐WST-8(5-(2,4-二磺基苯)-3-(2-甲氧基-4-硝基苯)-2-(4-硝基
- 951 苯)-2H-四唑单钠盐)
- 952 - 标准品

953 方法:

954 每份样品的试验平板数量和天数将取决于为该方法使用的控制策略。

- 955 - 标准品溶液和供试品溶液:
 - 956 ° 用试验培养基稀释至适当浓度。重复分析两次。
- 957 - 平板制备:
 - 958 ° 向指定用于“仅细胞对照”和96孔微孔板空白的孔中加入150 μ L试

² 包含约束性信息 (EC) 和非约束性信息

- 959 验培养基。
- 960 ◦ 向指定用于“细胞+ TNF- α 对照”的孔中加入100 μL 试验培养基和50
- 961 μL TNF- α 工作溶液。
- 962 ◦ 向样品孔中加入100 μL 试验培养基和200 μL 供试品溶液或标准品
- 963 溶液。
- 964 ◦ 进一步制备一系列2倍稀释液。
- 965 ◦ 然后加入50 μL TNF- α 工作溶液。
- 966 ◦ 在36.0-38.0 $^{\circ}\text{C}$ 温度下用5 \pm 2% CO_2 在温育器中温育1小时。
- 967 - 细胞制备
- 968 ◦ 使用含2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 放线菌素D的分析培养基制备WEHI-164细胞混悬
- 969 液，每毫升含 1×10^6 个细胞。
- 970 细胞铺板
- 971 ◦ 向各板孔中加入细胞混悬液50 μL ，添加过程中保持细胞混悬液均
- 972 匀。
- 973 ◦ 在含有5 \pm 2% CO_2 的温育箱中于36.0-38.0 $^{\circ}\text{C}$ 下温育20-24小时。
- 974 - 加入四唑盐并检测吸光度
- 975 ◦ 从每个板孔中取出培养基100 μL 。
- 976 ◦ 取复溶的WST-8混合物10 μL ，加入各板孔，重新温育3-4小时。
- 977 ◦ 使用酶标仪测定450 nm和650 nm处的吸光度。
- 978 ◦ 以450 nm处的读数减去650 nm处的读数，估算产生的甲瓩含量。
- 979 计算：
- 980 - 采用四参数逻辑曲线模型，计算待测制备液的效价。
- 981 - 根据开发期间规定的制备份数计算可报告结果。重复策略可能包
- 982 括对多个平板（通常为3个）结果的平均值。对于每个结果，需处于试验范围
- 983 内且通过样品适用性评估，方可用于计算可报告结果。
- 984 分析方法控制策略

985 细胞增殖试验测定相对效价（以上述案例为例）中，分析方法控制策略可能包
986 括以下要素：

987 系统适用性试验

988 - 标准品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应
989 “仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。

990 - 供试品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应
991 “仅细胞对照”，下侧平稳段对应“经TNF- α 处理的细胞对照”。

992 - 每条标准曲线计算得出的决定系数（ r^2 ）不小于，例如0.97。

993 - 最大值（仅细胞）与最小值（TNF- α 对照）的比值：最小值，例
994 如3.0。

995 样品适用性评估：

996 例如，相似性/平行性评估：

997 - 上渐近线比（A std/A test）：例如，0.8-1.2

998 - 下渐近线比（D std/D test）：例如，0.8-1.2

999 - Hill斜率比（B std/B test）：例如，0.8-1.2

1000 - 上下渐近线比（（D-A）std/（D-A）test）：例如，0.8-1.2

1001

1002 **依照ICH Q2进行分析方法验证：**

1003 - 验证方案包括基于细胞试验的预定义可接受标准

1004 ◦ ATP中定义的性能特性：

1005 ▪ 准确度

1006 通过使用各种起始稀释液，生成不同的剂量-响应曲线，以确定准确度

1007 • 可接受标准：

1008 ◦ 通过必须涵盖可报告范围的线性实验对相对准确度进行评估。在检测的相对效价范围内，不得观察到相对偏差的趋势。

1009 ◦ 理论效价与实测效价之间拟合回归线斜率的95%置信区间
1010 应在0.8-1.25范围内。1011 ◦ 考虑到测定的预期目的，各效价水平下计算的相对偏差的
1012 90%置信区间上限和下限不得过20%。

1014 ▪ 精密度

1015 • 可接受标准：

1016 考虑到测定的预期目的，可报告范围（95%置信区间几何变异系数
1017 (%)）内平均中间精密度的95%置信区间上限不得过20%。

1018 ▪ 专属性

1019 • 可接受标准：

1020 ◦ 本方法对活性成分的预期作用机制具有专属性，即采用相
1021 同的方法参数对其他生物制品进行检测时，不能获得剂量-响应曲
1022 线（不符合一项或多项试验可接受标准）。1023 ◦ 无相关工艺相关杂质或基质组分的干扰，即工艺相关杂质
1024 和基质组分不会显著影响剂量-响应曲线的特征。1025 ◦ 试验具有稳定性指示作用，即该方法能够检出效价变化和/
1026 或剂量-响应曲线形状变化，可使用强制降解样品（如经受适当
1027 热、光稳定性或氧化影响因素的样品）进行确认。

- 1028 ▪ 可报告范围
- 1029 • 可接受标准：
- 1030 相对效价范围是指符合准确度和精密度要求的范围。可报告范围
- 1031 必须至少包括质量标准范围（例如，质量标准范围的80%-
- 1032 120%）。在这种情况下，可报告范围相当于相对效价的64%-
- 1033 150%。
- 1034 ◦ 技术相关的分析方法属性：
- 1035 ▪ 结果的线性
- 1036 相对准确度是指实测相对效价与已知相对效价之间的关系。
- 1037 • 可接受标准：
- 1038 ◦ 90%置信相对准确度上限和下限需经过线性实验评估，该
- 1039 实验必须涵盖可报告范围。在检测的相对效价范围内，不得观察
- 1040 到相对偏差的趋势。
- 1041 ◦ 理论效价与实测效价之间拟合回归线斜率的95%置信区间
- 1042 应在0.8-1.25范围内。
- 1043 ▪ 分析方法的工作范围，即达到适当响应的曲线的上下限水平。根据开发
- 1044 中定义的重复策略，使用单个效价结果生成可报告结果。
- 1045 • 可接受标准：
- 1046 ◦ 最终可报告结果必须在质量标准范围内。单个结果必须符合
- 1047 规定的RSD（20%），且必须涵盖在验证范围内。
- 1048 ◦ 方法的验证范围必须足够宽，以涵盖单个结果。
- 1049 - 验证的执行
- 1050 在验证报告中总结结果，得出结论：分析方法符合分析方法属性的可接受标准。
- 1051 也就是说，方法达到了性能特性要求；总之，分析方法适用于预期目的。

1052 既定条件、报告类别和依据的描述

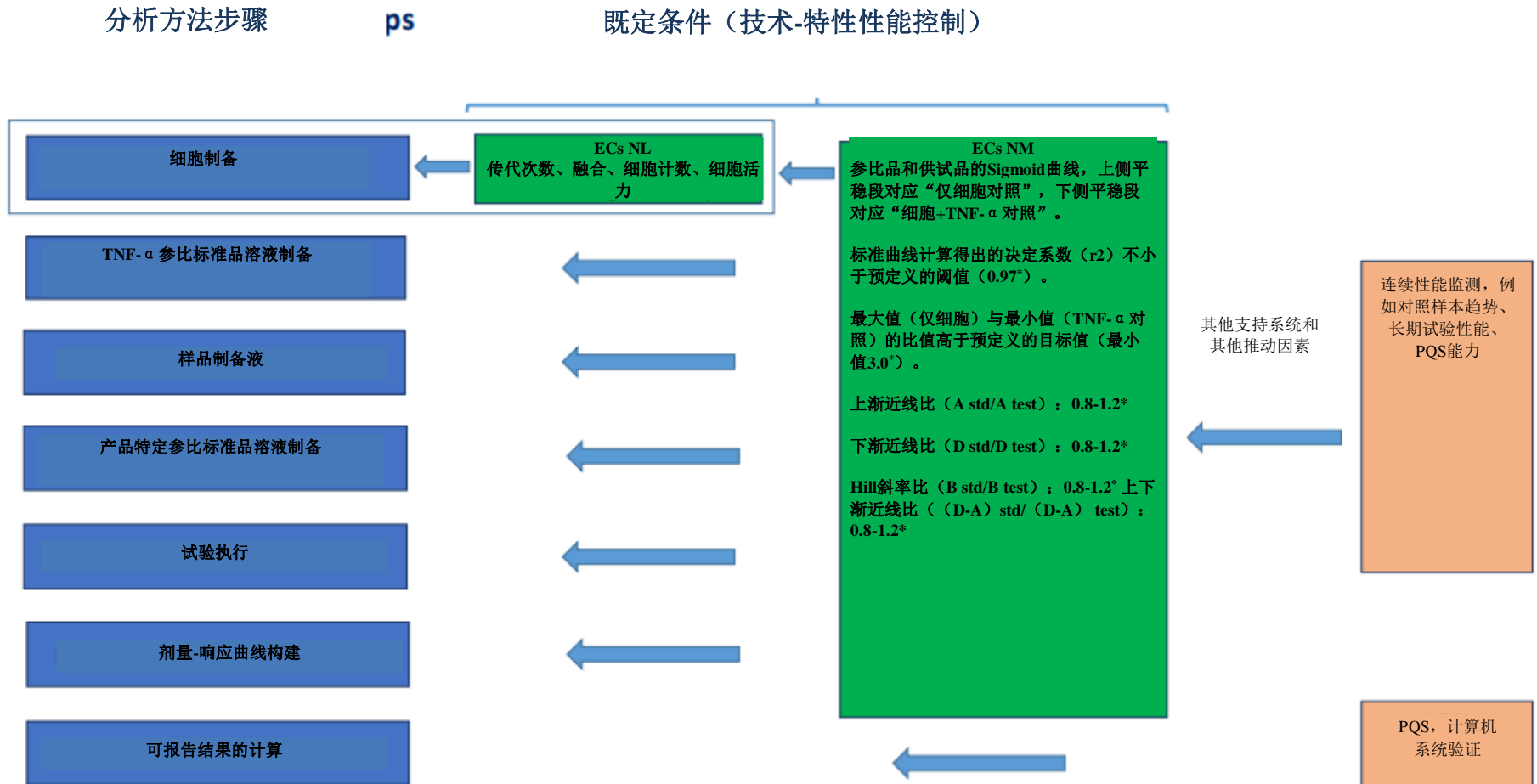
1053 基于对产品和工艺的了解，并考虑到方法开发数据，申请人拟定了既定条件和报

1054 告类别，以此作为初始申报资料的一部分。变更报告类别的依据包括遵守分析目标文
1055 件中描述的预定可接受标准和额外的性能控制（例如系统适用性试验和对照样品）。

1056 图3说明了哪些分析方法步骤与定义为既定条件的性能控制相关，以及与额外的连
1057 续性能监测推动因素相关。表6描述了既定条件及其报告类别和依据。

1058 *注意：本表中列出的EC数量及相关报告类别可能取决于获得的知识和提供的信息*
1059 *的程度。本示例中提供的信息并非现有的和将提交给监督机构的全部信息。EC的范*
1060 *围、实际报告类别和数据要求可能因地区而异。某些其他参数和条件在下表中未定义*
1061 *为EC，但在某些情况下可能需要作为EC，具体视地区而定。其他方法原理的变更可能*
1062 *引发不同的风险，，从而产生不同的报告类别。某些情况下（例如，不同技术之间的*
1063 *变化）可能需要PACMP，具体视地区而定。*

1064 图3: -分析方法的性能控制策略说明



1065

1066 *单个值只是一个示例，可能因产品而异

1067

1068 表6: 在增强方式中采用ICH Q12原则的拟定既定条件和报告类别

既定条件	ICH Q12报告类别	依据/理由
ATP中报告的性能特性	PA	控制CQA的相关性能特性
技术（原则） 基于细胞的试验	PA或NM ¹	通过控制策略和明确的桥接策略（见下文）确保遵守ATP，从而对变更的影响进行评估
分析方法参数		
与控制策略要素（SST，样品适用性评估）相关		
参比标准品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。	NM	通过遵守ATP以及成功实施桥接策略和PQS，确保分析方法的长期性能。
供试品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。	NM	
各标准品/样品曲线计算的决定系数（ r^2 ）； r^2 不小于0.97 ²	NM	
最大值（仅细胞）与最小值（TNF- α 对照）的比值。最小比值3.0 ²	NM	

1069

ICH Q14指导原则

既定条件	ICH Q12报告类别	依据/理由
相似性/平行性的评估：例如上渐近线比 (A std/A test) : 0.8-1.2 ² 下渐近线比 (D std/D test) : 0.8-1.2 ² Hill斜率比 (B std/B test) : 0.8-1.2 ² 上下 渐近线比 ((D-A) std/ (D-A) test) : 0.8-1.2 ²	NM	
细胞制备		
细胞系； WEHI-164细胞 (ATCC)	NM	基于对作用模式（与CQA的联系）的理解，通过对TNF- α 的响应（存在药物时的细胞存活率和不存在药物时的细胞死亡率）确认响应细胞系的适用性。 通过控制策略和明确的桥接策略（见下文）确保遵守ATP，从而对变更的影响进行评估。 修订后的系统适用性试验需确保细胞系的适用性及其性能（传代次数、融合、细胞计数、细胞活力、信号幅度、响应曲线形状）
细胞制备：传代培养	NL	通过以下方式确保细胞性能足以检测药物质量的变化：
培养基成分：RPMI1640、L-谷氨酰胺、热灭活胎牛血清和适当抗生素	NL	方法的系统适用性涵盖细胞制备的适用性（传代次数、融合、细胞计数、细胞活力、信号幅度、响应曲线形状）。 将对影响方法性能和与CQA的联系的细胞代谢变更进行检测。 不会进行导致细胞性能不足的变更，因为此类变更可能会对定义的性能特性产生影响，因此需要事先批准。

ICH Q14指导原则

		通过控制策略和明确的桥接策略（见下文）确保遵守ATP，从而对变更的影响进行评估。
采用含2 µg/mL放线菌素D的试验培养基制备WEHI-164细胞混悬液，每毫升含 1×10^6 个细胞。	NL	
TNF- α 参比标准品溶液制备		
<p>TNF-α溶液浓度： 用试验培养基进行稀释，以达到适当的工作浓度（例如ED80），该浓度由TNF-α剂量-响应曲线测定，且符合控制策略要素。</p> <p>TNF-α剂量-响应曲线的形状：</p>	NL	<p>通过以下方式证明药物作用模式的基础，即对TNF-α的作用：</p> <p>通过控制策略和明确的桥接策略（见下文）确保遵守ATP，从而对变更的影响进行评估。</p> <p>1/参比标准品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF-α对照”。</p> <p>2 / 供试品的剂量响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF-α对照”。</p> <p>3/标准曲线计算得出的决定系数（r^2）不小于0.97²。</p> <p>4/最大值（仅细胞）与最小值（TNF-α对照）的比值：最小值3.0²。</p> <p>5/遵守样品适用性评估标准</p>

ICH Q14指导原则

既定条件	ICH Q12报告类别	依据/理由
样品制备和产品特性参比溶液制备		
供试品和参比品溶液的制备：每个板孔加入适量溶液，以符合控制策略要素要求	NL	通过控制策略要素确保读数和剂量-响应曲线的适用性： 1/参比标准品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。 2 / 供试品的剂量响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。 3/标准曲线计算得出的决定系数 (r^2) 不小于0.97 ² 。 4/最大值（仅细胞）与最小值（TNF- α 对照）的比值：最小值3.0 ² 。 5/遵守样品适用性评估标准 以及： 通过桥接策略和PQS ³ 确保遵守ATP
试验步骤		
阳性对照板孔的制备：加入适量TNF- α	NL	通过控制策略要素确保读数和剂量-响应曲线的适用性：
向板孔中加入TNF- α 溶液：每孔加入适量的TNF- α 溶液	NL	1/参比标准品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。
加入的细胞量 向各板孔中加入适量细胞混悬液，添加过程中保持细胞混悬液均匀	NL	2/供试品的剂量响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。 3/标准曲线计算得出的决定系数 (r^2) 不小于0.97 ² 。
预温育温度和持续时间适当，符合控制策略要素条件（温度、持续时间、%CO ₂ ）	NL	4/最大值（仅细胞）与最小值（TNF- α 对照）的比值：最小值3.0 ² 。

ICH Q14指导原则

既定条件	ICH Q12报告类别	依据/理由
温育温度和持续时间适当，符合控制策略要素条件（温度、持续时间、%CO ₂ ）	NL	5/遵守样品适用性评估标准 以及： 通过桥接策略和PQS ³ 确保遵守ATP
剂量-响应曲线构建		
复溶四唑盐WST-8(5-(2,4-二磺酸苯基)-3-(2-甲氧基-4-硝基苯)-2-(4-硝基苯)-2H-四唑-3-鎓钠)	NL	通过控制策略要素确保药物对细胞作用的定量读数的适用性： 1/参比标准品的剂量-响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。
向各板孔中加入适量复溶四唑盐，以符合控制策略要素要求	NL	2 / 供试品的剂量响应曲线呈sigmoid函数曲线状，上侧平稳段对应“仅细胞对照”，下侧平稳段对应“细胞+TNF- α 对照”。
满足控制策略要求的温育条件（温度、持续时间）：	NL	3/标准曲线计算得出的决定系数（ r^2 ）不小于0.97 ² 。 4/最大值（仅细胞）与最小值（TNF- α 对照）的比值：最小值3.0 ² 。
波长：450 nm和650 nm	NL	5/遵守样品适用性评估标准
四参数逻辑曲线模型	NL	以及： 通过控制策略和明确的桥接策略（见下文）确保遵守ATP，从而对变更的影响进行评估 ³

1072 PA：事先批准，NM：通知等级中等；NL：通知等级低（根据ICH Q12定义）

1073 ¹如果变更对质量标准无影响，则为NM；如果对质量标准有影响，则为PA（见以下情况1和2）。但是请注意，监管协议可能因地区而异。

1074 ²单个值只是一个示例，可能因产品而异。

1075 ³1500报告类别最初为NM，但基于提供的依据已降级至NL

1076 以下参数不是既定条件:

- 1077 • 阴性对照板孔的制备
- 1078 • 铺板形式

1079 变更评估和桥接策略

1080 假设上表中的信息（既定条件和报告类别）已事先与监管机构达成一致。

1081 对于每项变更，MAH将进行结构化风险评估，以评价对性能特性的潜在影响以及
1082 与相应ATP中定义的CQA（生物活性）的联系。作为风险评估的潜在结果，将进行实
1083 验性桥接研究，以证明对性能特性和相关标准的依从性。如有必要，可对受变更影响
1084 的分析方法性能特性，和/或代表性样品和标准品的比较分析，进行部分或完全（再）
1085 验证。

1086 如果桥接研究期间无法证明符合ATP中定义的性能特性和相关标准，MAH承诺不
1087 采用预定义的报告类别实施修改后的分析方法。

1088 变更描述和管理

1089 以下情况说明了批准后变更的示例，并说明了MAH在实际实施变更时应遵循的步
1090 骤。

1091 变更1：由经典细胞培养（连续细胞培养）变更为即用型细胞（冷冻细胞）

1092 i) 变更的背景

1093 从连续细胞培养变更为即用型细胞，采用相同细胞系进行基于细胞的效价试验。
1094 该变更仅影响分析方法的细胞制备步骤。细胞冻融条件是成功实施变更的关键控制参
1095 数（响应细胞系的细胞代谢），而分析方法的其余部分保持不变。该变更属于技术范
1096 畴，预期不会对质量标准产生影响。

1097 ii) 结构化风险评估总结:

1098 因为该变更与CQA效价直接相关，所以将其与**检测的相关性**归类为高，这是确保
1099 药物有效性的关键。该变更预期不会影响与CQA的联系（使用相同细胞系，读数相
1100 同），且在这方面的关键性较低。

1101 用于效价测定的基于细胞的试验代表了一种**复杂的技术**，因为此类试验具有多种

1102 变异性来源。对导致变异性的因素已有充分理解（基于前期验证的知识和增强的开发
1103 数据），并在分析方法控制策略中进行了应对。

1104 **变更的程度**仅限于细胞制备（分析方法细胞制备步骤的变更），可能仅对分析方
1105 法的一个属性（细胞代谢）有潜在影响。已对影响细胞性能的因素有所理解，并作为
1106 即用型细胞制备液开发的一部分进行了研究，同时通过SST进行监测。

1107 初步风险评估表明风险为中等。依照ICH Q14图2中的步骤2进行了进一步评价。

1108 **iii) 遵守相关性能特性的标准**

1109 基于对分析方法以及与CQA的联系的理解，对相关性能特性的标准进行了定义，
1110 以确保变更后测定结果的变更后质量（请参见表4）。该变更可能潜在影响细胞代谢，
1111 从而影响方法的准确度和精密度。实施变更之前，需要证明变更符合这些性能特性。
1112 该变更不影响性能特性专属性和可报告范围，因为使用的细胞系相同，且效价测定使
1113 用的参比标准品相同。

1114 **iv) 变更后分析方法性能的证明**

1115 **性能特性影响的评价**

1116 根据对分析方法的^{理解}，已在分析方法描述中对以下可能影响性能的参数进行了
1117 评价和定义：细胞冻融条件/细胞代谢是控制的关键参数（冷冻培养基、冷冻条件、生
1118 长/试验培养基）。本方法的SST涵盖了细胞制备的适用性（例如融合、细胞密度、细
1119 胞活力、信号幅度、响应曲线形状）。

1120 **实验性桥接研究结果**

1121 根据ICH Q14表2，对分析方法进行了部分再验证，以证明变更后受影响的分析方
1122 法属性符合要求。选取一组代表性样品，分别采用变更前和变更后的分析方法对其进
1123 行比较分析，以确保所得结果具有可比性，或观察到的差异可接受且不影响既定质量
1124 标准。

1125 **v) 结论**

1126 性能特性评价证明符合既定标准要求。研究结果证实了变更后细胞性能达到预
1127 期。该方法的^{目的}未发生变更，生成可报告结果的能力保持不变。成功进行了方法桥
1128 接。考虑到初始风险评估结果、性能特性评价和桥接研究结果，认为本变更是低风

1129 险。

1130 **vi) 监管报告:**

1131 表6中与监管机构协定的原始既定条件及相关报告类别与执行步骤的结果相符，因
1132 此拟定该变更为低风险的通知等级。提交修订后的分析方法描述、分析验证报告和桥
1133 接研究结果。分析方法的SST标准（包括确保细胞性能充分的标准）保持不变。提供
1134 适当的开发数据，证明冷冻细胞制备和处理对细胞性能无影响。

1135 **变更2: 从结合ELISA试验变更为基于细胞的试验**

1136 另一个示例考虑了一种开发情况，即MAH最初开发了一种结合试验（ELISA）来
1137 确定抗TNF α 重组蛋白的相对效价，并计划在批准后实施一种基于细胞的试验。ATP
1138 （表4）中定义的和初始上市许可中纳入的检测要求保持不变，用于支持试验开发和实
1139 施变更。

1140 **i) 变更的背景:**

1141 从结合ELISA试验变更为基于细胞的试验。两种方法均可评价药物相对于参比标
1142 准品的相对效价。然而，其作用机制评价结果通常不同：结合ELISA试验靶向早期事
1143 件（仅结合活性），而基于细胞的试验靶向晚期事件，即信号级联中的下游事件。从
1144 ELISA试验变更为基于细胞的试验不属于技术范畴，无法排除对质量标准可接受标准
1145 的潜在影响。

1146 **ii) 结构化风险评估总结:**

1147 因为该变更与CQA效价直接相关，所以将其与**检测的相关性**归类为高，这是确保
1148 药物有效性的关键。该变更可能影响CQA效价的测定，因为该变更是从免疫化学结合
1149 试验变更为基于细胞的试验，后者也靶向下游事件级联。然而，预期该变更能更好地
1150 反映产品的作用方式。

1151 拟定用于效价测定的基于细胞的试验代表了一种**复杂的技术**，因为其多种变异
1152 性来源相关。采用基于风险评估对分析方法参数进行了评价，结果证明导致变异性的
1153 因素已得到充分理解（基于前期验证知识和增强的开发数据），并在分析方法控制策
1154 略中得到应对。

1155 **变更的程度**较高，因为预计在技术范畴上会从免疫化学结合试验变更为基于细胞

1156 的试验。分子的功能特性和相关作用机制已得到充分了解，并得到临床前数据和临床
1157 数据的支持。对不同的候选响应细胞系进行了筛选。基于预定义的选择标准和分子作
1158 用方式，选择了WEHI164细胞系和试验形式（细胞增殖）。为了阐明分子（抗TNF）
1159 的作用方式，使用TNF- α 标准品对药物存在时加入TNF- α 对细胞增殖的影响进行了测
1160 定。已确定了TNF- α 和药物的最佳量，并在分析方法中进行了描述。定义了相关SST标
1161 准，以确保分析方法得到适当控制（参见分析方法描述）。初步风险评估认为风险较
1162 高。依照ICH Q14图2中的步骤2进行了进一步评价。

1163 **iii) 遵守相关性能特性的标准**

1164 基于对分析方法以及与CQA的联系的理解，对相关性能特性的标准进行了定义，
1165 以确保测定结果的变更后质量（请参见上述ATP表）。尽管免疫化学结合ELISA试验
1166 和基于细胞的试验的分析方法原理不同，但在两种方法中，报告中结果的计算和测定
1167 均采用相同的参比标准品，因此数据可归一化（RS用作“内部校准品”）。因此，采用
1168 相同方法表示可报告结果（%相对效价）。但是，依据变更的程度，需要对新方法进
1169 行验证，包括需要对ATP中定义的性能特性的遵守情况进行数据评估。

1170 **iv) 变更后分析方法性能证明**

1171 根据ATP中定义的标准开发了基于细胞的试验。开发后，对分析方法进行了验
1172 证。

1173 如果能够证明符合ATP中定义的性能特性，且无需变更质量标准的可接受标准，
1174 则将启动桥接研究。

1175 然而，由于基于细胞的试验具有复杂性，与结合ELISA试验相比，性能特性（例
1176 如精密度）可能受到影响。如果分析方法的性能仍然符合ATP中描述的标准并支持质
1177 量标准的可接受标准，则需要进行评估。如果需要变更ATP和/或质量标准的可接受标
1178 准中描述的性能标准，则变更应将遵循预批准途径。

1179 **实验性桥接研究结果**

1180 根据ICH Q14表2，对基于细胞的方法进行了全面验证，以证明其适用于其预期目
1181 的。结果表明基于细胞的试验方法满足ATP的要求。选取一组代表性样品，分别采用
1182 ELISA试验和基于细胞的试验方法对其进行比较分析，样品中包括代表性的降解样品
1183 （能够检测效价损失的强制降解样品或处于货架期末的样品）。研究旨在证明两种方

1184 法生成结果具有连续性（例如，异常结果在两种方法中均应检测为不合格）。

1185 **v) 结论**

1186 基于细胞的试验的验证结果和性能特性评价结果证明，变更符合规定的标准要求。
1187 研究结果证明，ELISA试验和基于细胞的试验方法均有能力检测相对效价，且准
1188 确度、精密度和专属性水平符合要求。分析方法的目的是保持不变，其生成可报告结果
1189 的能力保持不变。

1190 成功进行了方法桥接。变更评价表明，变更的程度对ATP或质量标准均无影响。
1191 此外，两种方法的桥接评价证实相对效价的质量标准保持不变。考虑到初始风险评估
1192 结果、性能特性评价和桥接策略，认为与变更相关的风险为中等风险。

1193 **vi) 监管报告**

1194 表6中与监管机构协定的原始既定条件及相关报告类别与所执行步骤的结果相符，
1195 因此该变更的实施将按“中等通知等级”类别提交给相关监管机构。提交修订后的分析
1196 方法描述，分析验证报告和桥接研究结果。

1197 **13.2 附录B: MODR验证策略**

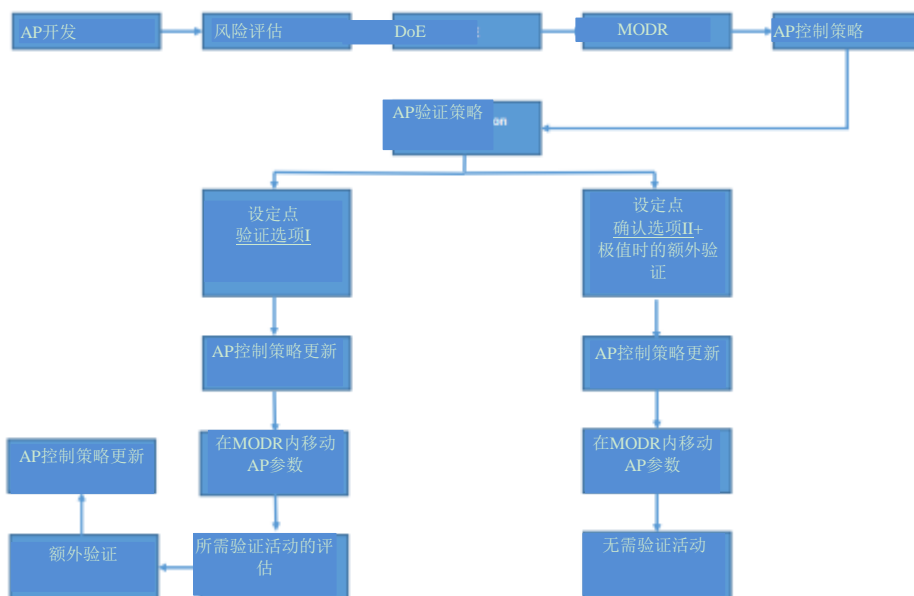
1198 本附录描述了MODR的验证策略，并包括一个示例表，该表列出了性能特性、属
1199 性的可接受标准、参数范围、控制策略和验证策略。

1200 *ICH Q2*提供分析方法验证的概念。一般来说，验证数据需能覆盖操作空间。验证
1201 活动的范围和相应的操作灵活性需要根据具体情况进行评估和论证。不考虑已在开发
1202 中验证的性能特性。以下两个选项代表典型方式的示例，也允许使用折中的解决方
1203 案。

1204 选项1: 验证时，至少选择一组MODR的单变量操作参数（通常为预期操作条件或
1205 设定点）。对于MODR内参数的未来变更，必须对额外验证活动进行评估。
1206 应在申报资料中描述确定额外验证范围的策略

1207 选项2: 设定点（例如中心点）和MODR极值的验证允许MODR内的全部操作具有
1208 灵活性，而不需要进一步的验证活动。

1209 图1概述了分析方法的生命周期中的一些步骤，显示了两种不同验证选项的影响。



1210

1211 **图1: 不同验证选项后的分析方法生命周期**

1212 表1给出了总结分析方法基础知识的途径，可用作变更的参考资源。该示例描述了
1213 如何根据ATP (col.B) 和DoE结果 (D、E、F列) 编写分析方法的核​​心信息，得出

1214 MODR (D列) 的定义以及证明满足特定分析方法属性标准的单个范围 (E列)。

1215 MODR (D列) 源于这些单个范围 (E列) 的共同重叠, 而现有信息 (F列) 定义了实

1216 验涵盖的整个研究范围。同时, 表1允许调整分析方法属性的可接受标准 (B列), 使

1217 其与分析方法控制策略 (G列) 保持一致, 甚至可以为来源于ICH Q2的分析方法性能

1218 特性 (A列) 制定分析方法验证策略 (H列)。可在分析方法控制策略 (G列) 中预定义

1219 MODR内参数未来移动的实验方案。

1220 表1: 作分析方法信息的综合汇编

A	B	C	D	E	F	G	H
AP性能特性	基于ATP的AP属性	对AP属性有潜在影响的AP参数 (基于AP风险评估)	参数范围			AP控制策略	AP验证策略
			MODR	显示满足特定AP属性	现有信息*		
专属性/选择性	杂质A和B的分离: $R_s \geq N$	柱温	35-42 °C	32-60 °C	20-60 °C	-MODR -对于 SST 溶液, 杂质 A 和 B 的 $R_s \geq N$	MODR 和 SST 涵盖的验证
		梯度	3.0-4.5% 洗脱液 B/ 分钟	2.5-5.0% 洗脱液 B/ 分钟	1.0-10.0% 洗脱液 B/ 分钟		
		流速	0.8-1.2 ml/分钟	0.5 - 1.5 ml/分钟	0.5 - 1.5 ml/分钟		
精密度	杂质A的 $TAE \leq N$ NN%	柱温	35-42 °C	32-60 °C	20-60 °C	-验证 -仪器确认- SST: 参比品溶液 (杂质) 的 $RSD \leq N$	精密度验证: -重复性 (n=NN) : $RSD \leq N$ -中间精密度 (n=NN) : $RSD \leq N$ -中间精密度: Δ 与重复性 $\leq N$
		梯度	3.0-4.5% 洗脱液 B/ 分钟	2.5-5.0% 洗脱液 B/ 分钟	1.0-10.0% 洗脱液 B/ 分钟		

ICH Q14指导原则

	梯度: 起始条件, 洗脱液 A: 洗脱液 B 比例	85:15- 95:5	85:15-95:5	75:25- 100:0
	流速	0.8-1.2 ml/分 钟	0.5 - 1.5 ml/分钟	0.5 - 1.5 ml/分钟
	进样量	4-6 µl	3-20 µl	1-20 µl

1221 NN/NNN...需要定义和论证的值

1222 *例如, 基于所执行的DoE

1223 13.3 附录C: 多变量模型生命周期组成的示例

模型描述	在线NIR测定混合范围， 以在开发期间达到混合均匀	未包衣片剂的含量均匀度和 含量测定（用于产品放行的 NIR法）	用于GMP来料放行定性鉴别检 测的葡萄糖Raman模型
	模型类别-低影响	模型类别-高影响	模型类别-高影响
	用户需求	明确的模型要求（例如 ATP）	明确的模型要求（例如ATP）
风险评估	根据现有知识、实验室和 试验性的研究或DOE（视 情况而定）进行初步评 估。	基于初始开发期间获得的知 识进行正式风险评估。	基于初步开发期间获得的知识 进行正式风险评估
模型开发-校 准	基于实验室和试验性的数 据以及既往经验的科学合 理的方法。	基于正式设计的方法（例如 DOE）涵盖相关变异性来源 的适当范围，并具有符合预 期用途的既定可接受标准。	正式设计的方法如涵盖相关变 异性来源（原料药、批次、包 装、各类仪器、用户、软件限 制）适当范围，并具有既定可 接受标准，则符合预期用途。 如果Raman法不符合要求，则 确定识别阈值，使得现有方法 与适宜的替代方法具有相同检 测概率。
验证（确 认）	评估专属性和耐用性，选 择性评估线性和/或精密度	。根据既定可接受标准，对 可报告范围内适用的性能特 性进行全面验证（ICH Q2）	根据既定可接受标准，对可报 告范围内适用的性能特性进行 全面验证（ICH Q2）。包括确 立Raman法与现有放行方法 （可作为参考方法）具有的适 当可比性
性能监测	常规监测-维护数据源（仪 器）、自动化连接和数据 完整性。	常规监测-维护数据源（仪 器）、自动化连接和数据完 整性。	常规监测-维护数据源（仪 器）、自动化连接和数据完整 性。
	实时诊断-实施初始诊断， 以实时确认模型性能。	实时诊断-实施常规诊断， 以实时确认模型性能。	实时诊断-实施常规诊断，以 实时确认模型性能。
	定期监测-如适用，以科学 合理的频率或根据需要以	定期监测-以科学和统计学 上合理的频率或以事件为基	定期监测-以科学和统计学上 合理的频率或以事件为基础，

ICH Q14指导原则

	事件为基础，对模型预测的结果与参考方法进行比较。	础，对模型预测的结果与参考方法进行比较。	对模型预测的结果与参考方法进行比较。
模型维护	模型更新-当新实验数据可用时，工艺开发阶段通常会进行更新	模型更新-应根据模型监测和维护策略进行更新。	模型更新-应根据模型监测和维护策略进行更新。
	根据PQS进行变更管理	根据PQS进行变更管理	根据PQS进行变更管理

1224