符合不同研发阶段的单抗药物质量控制

杨嘉明
珠海市丽珠单抗生物技术有限公司

2017-03-30

Top 10 Drugs: 2010

Rank	Drug	Indication	US$ B
1	Lipitor	Cholesterol	11.4
2	Plavix	Anticlotting	9.6
3	Enbrel	Arthritis	8.4
4	Advair	Asthma/COPD	7.8
5	Remicade	Arthritis	7.4
6	Avastin	Cancer	6.9
7	Rituxan	Cancer	6.5
8	Diovan	Hypertentsion	6.1
9	Crestor	Cholesterol	5.8
10	Humira	Arthritis	5.4

Top 10 Drugs: 2015

Rank	Drug	Indication	US$ B
1	Humira	Arthritis	14.0
2	Harvoni	HCV	13.9
3	Rituxan	Cancer	7.3
4	Lantus	Diabetes	7.1
5	Avastin	Cancer	7.0
6	Herceptin	Cancer	6.8
7	Remicade	Arthritis	6.6
8	Prevnar	Infection	6.2
9	Januvia	Diabetics	6.2
10	Revlimid	Cancer	5.8

单抗药物发展机遇

◆ 单抗药物的比较优势

- 特异性强，副作用小，疗效显著半衰期长；
- 在自身免疫和肿瘤领域有优势。

◆ 肿瘤免疫治疗的快速发展（PD1/PD-L1, CTLA4, OX40...）

◆ 新型抗体的发展（双特异抗体、ADC、纳米抗体）

◆ 单抗药物生产技术的成熟

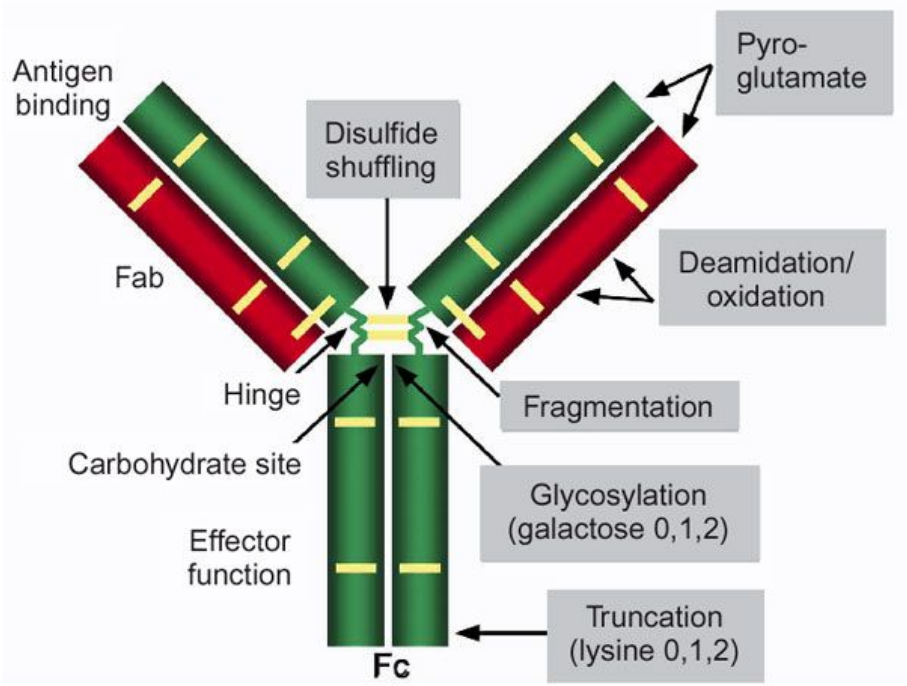
◆ 生物类似药的发展机会（专利到期）

◆ 国内注册法规日臻完善，为新药开发提供有利的土壤（审评制度改革、生物类似药法规、生物类似药法规）。

Outlines

- 单抗药物研发和质量控制的特点和要求
- 从分子设计到IND阶段质量控制的要素及举例
- 临床研究阶段质量控制的要素及举例
- 结语

异质性决定了抗体质量控制的复杂性



J Chirino, *Nature Biotechnology* (2004)

抗体分子的多种翻译后修饰造成极为复杂的多样性，抗体药物实际上是一个混合物，含上亿种可能的变体。

N-糖对生物学功能的影响

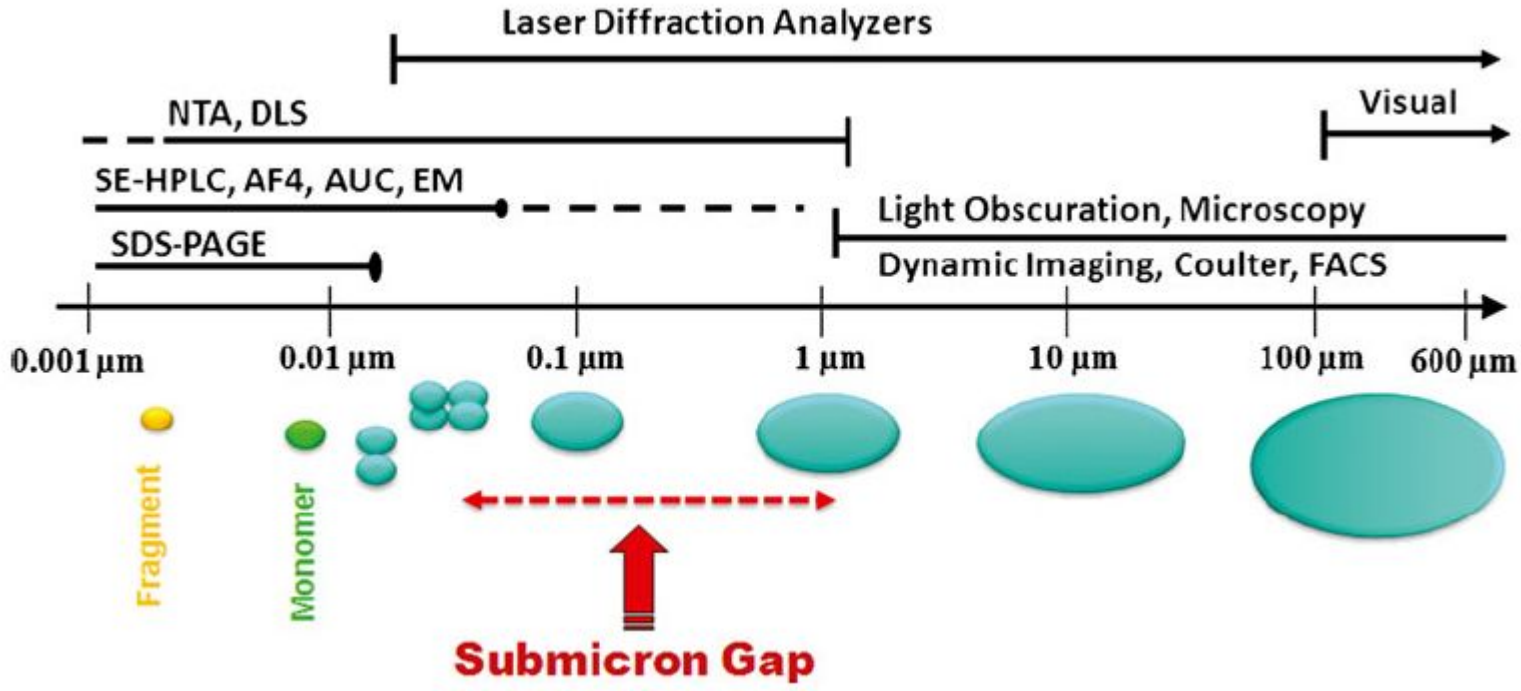
	CDC	ADCC	Clearance
Non-glycosylated	↓	↓	↔
Higher Gal	↑	↔	↔
Oligomannose	↓	↑	↑
Non-fucosylated	?	↑	↔
High Sialic Acid	?	?	↓

针对单抗异质性的分析技术平台

异质性	质量属性	分析方法
分子大小异质性	Fragmentation	CE, SEC, GPC, SDS-PAGE
	Aggregation	SEC, CE-SDS, MALS, DLS, AUC
电荷异质性	N-terminal (pyro E)	CEX , icIEF, LC-MS
	C-terminal (-Lyn, Pro-NH_2)	CEX, icIEF, LC-MS
	Asn deamidation or isomerization	CEX, icIEF, LC-MS
	Sialylation	HPLC (DMB)
糖基化	Glycoform	UPLC-FLD (2-AB)
其他修饰/降解	Oxidation, isomerization, sequence variants	LC-MS, CEX

蛋白聚集的检测分析手段

◆ 根据方法特点，采用多种分析手段对同一质量进行检测。



Das T.K., AAPS PharmSciTech, 2012

放行检验 v.s. 表征分析

放行检测

	项目	方法技术
理化特性	外观	肉眼检查
	蛋白浓度	UV
	不溶性颗粒	光阻法
	聚体和降解物	SEC-HPLC、CE
	电荷异质性	CEX-HPLC
	糖基化	UPLC-FLD
鉴别	肽图	HPLC
	等电点	cIEF
	免疫鉴别	Western Blot
安全性	无菌	膜过滤培养法
	细菌内毒素	LAL法
	HCP	ELISA
	DNA	RT-PCR
生物学活性	结合活性	ELISA
	细胞活性	CDC，重组细胞法

表征分析

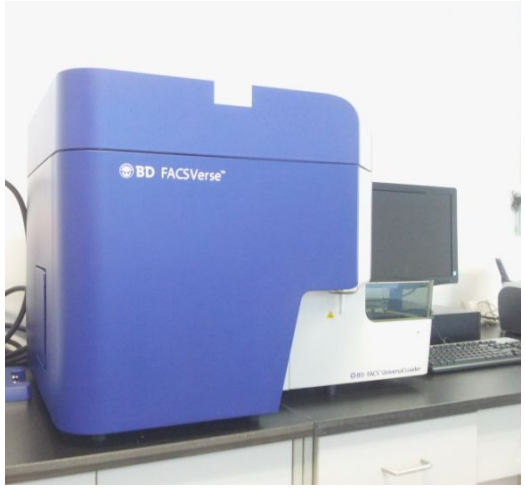
类别	项目	方法技术
结构与理化特性	完整/还原分子量	LC-MS、SDS-PAGE
	氨基酸序列覆盖率	LC-MS
	N/C端序列	Edman法、LC-MS
	糖基化（N-/O-糖）	UPLC-FLD、LC-MS
	翻译后修饰（氧化）	CEX-HPLC、LC-MS
	二硫键	LC-MS
	高级结构	CD、DSC、FTIR
生物学活性	FcR结合活性	ELISA，ALPHA
	亲和力	Biacore
	功能生物学活性	ADCC，MLR
纯度和杂质	纯度	SDS-PAGE
	相关杂质（MTX）	HPLC、ELISA
……		

单抗药物质控分析技术平台

UPLC-MS

HPLC

CE

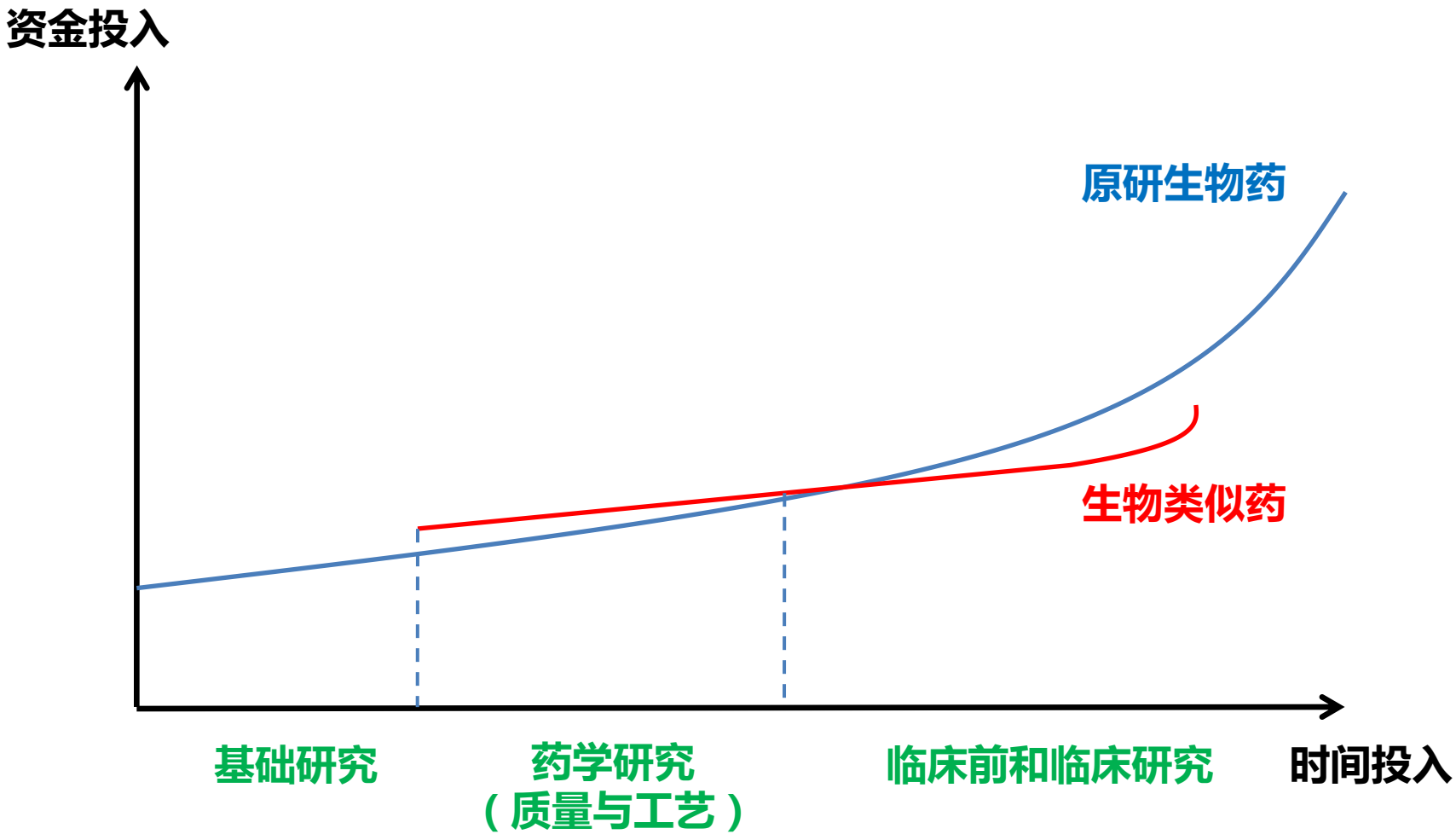


FACS

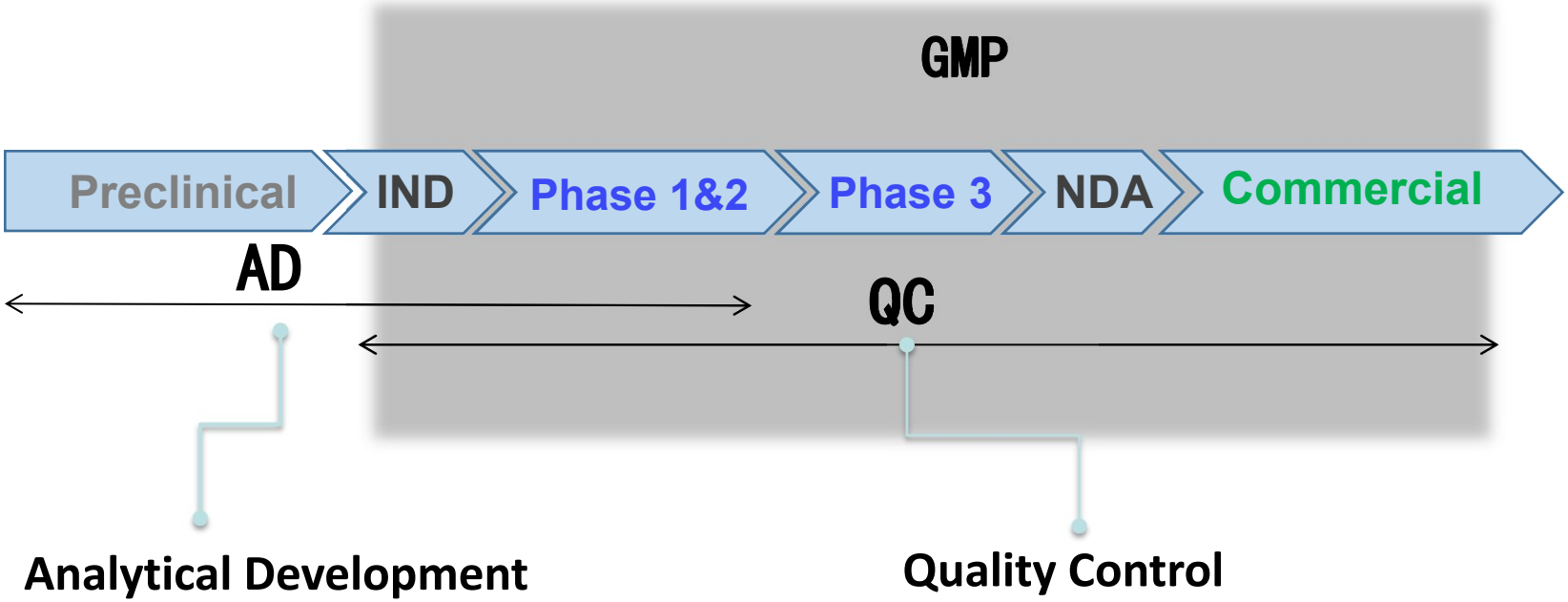
iCE

RT-PCR

原研生物药 v.s. 生物类似药



不同研发阶段的质量控制



- 产品的质量属性
- 分析方法
- 质量标准

风险管理和质量源于设计

法规符合性

科学性

- 质量源于设计
- 风险管理

质量源于设计（QbD）

目标产品质量档案（QTPP）

风险评估

关键质量属性（CQAs）

工艺参数和物料属性
(Process parameters and material attributes)

设计空间（Design Space）

Knowledge

Process development

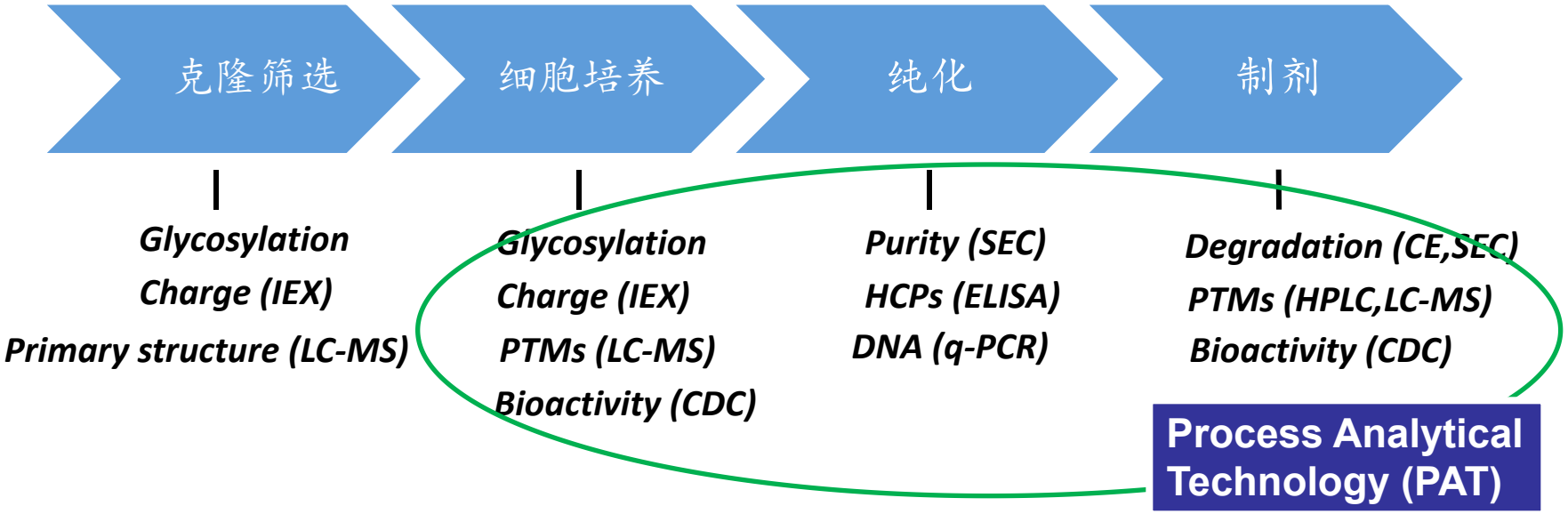
Molecule characterization

控制策略

Outlines

- 单抗药物研发和质量控制的特点和要求
- 从分子设计到IND阶段质量控制的要素及举例
- 临床研究阶段质量控制的要素及举例
- 结语

在分析质控指导下开展工艺开发

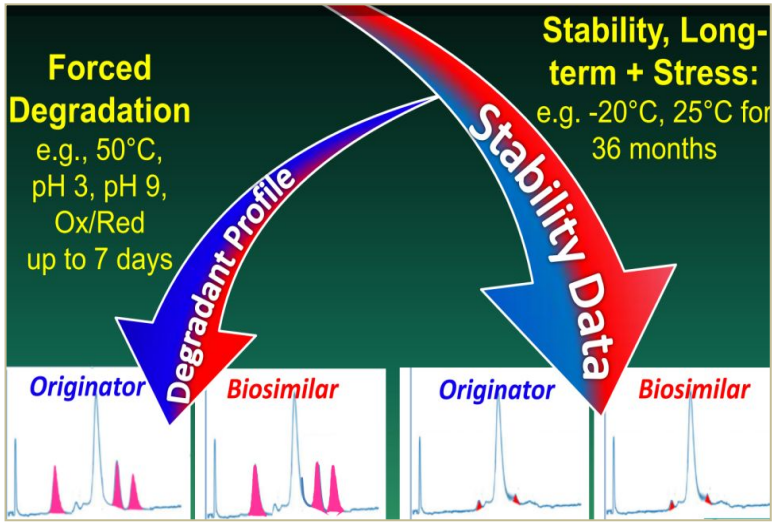


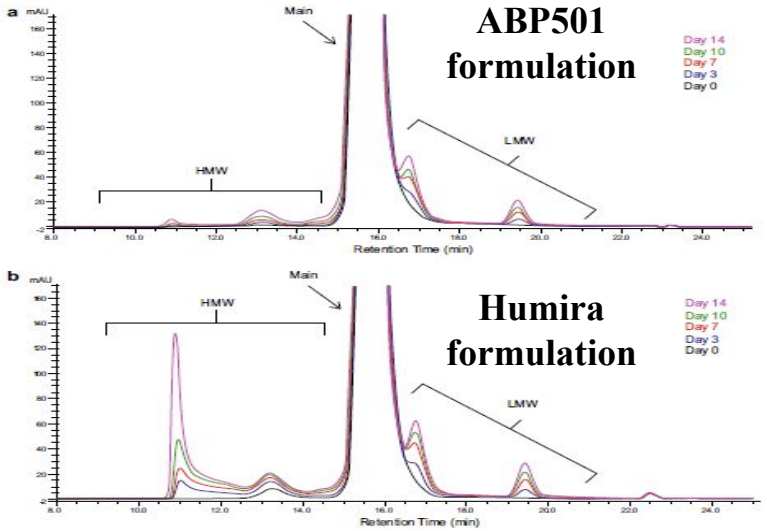
质控分析犹如人的眼睛，为工艺开发指向正确的方向

强制降解研究

- 强制降解研究：指将产品置于比较剧烈的条件下，考察其稳定性的一系列试验。

- 根据ICH Q1A和Q5C，其目的主要有：
  - 了解抗体的稳定特性及降解路径，可为分子评估、克隆筛选、纯化及制剂工艺开发、工艺可比性研究、仿制药类似性研究等提供支持；
  - 在一定程度上对某些用于检测杂质或降解产物的质控方法的专属性进行验证；
  - 为GMP稳定性研究方案选择稳定性指示方法。

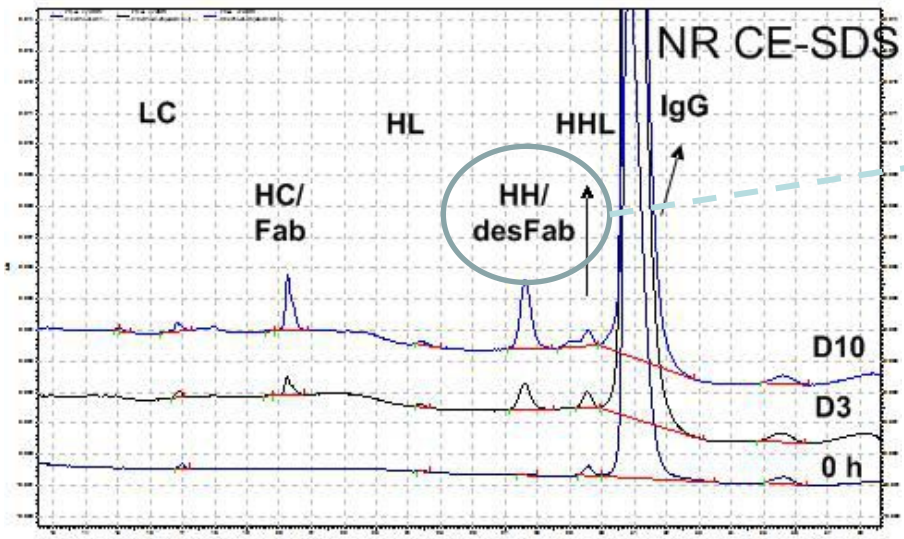


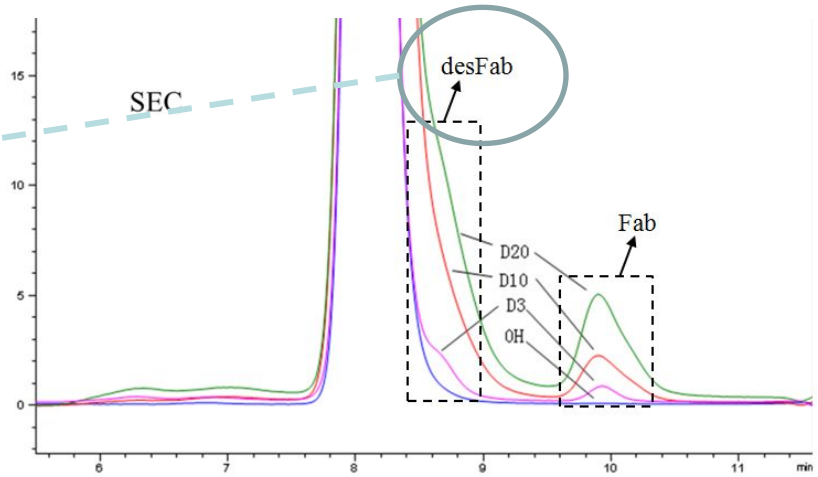


Liu J. et al. BioDrugs (2016)30

稳定性指示方法开发

□ CE-SDS & SEC（低pH强制降解）





- 在常规样品中观察不到的杂质，可用于在方法验证中评估其选择性/专属性。
- CE-SDS（侧重片段）和SEC（侧重聚体）都是足够灵敏的稳定性指示方法。

Outlines

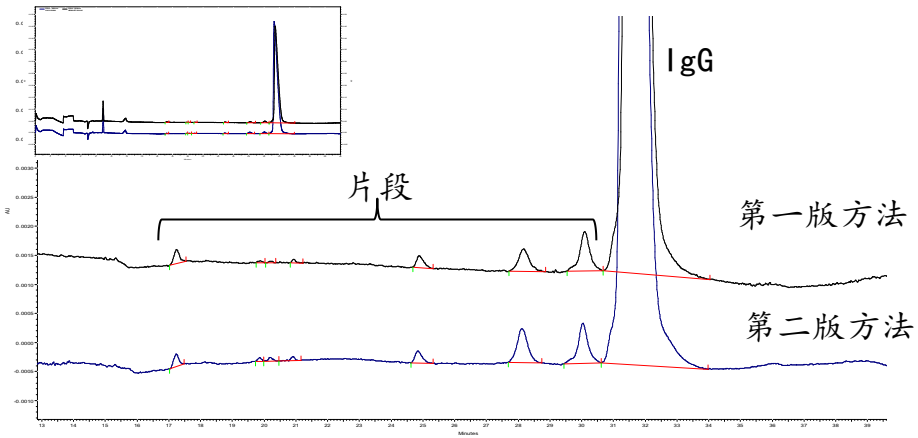
- 单抗药物研发和质量控制的特点和要求
- 从分子设计到IND阶段质量控制的要素及举例
- 临床研究阶段质量控制的要素及举例
- 结语

QC：常规质量控制的实践要求

GMP管理要素				
人	机	物	法	环
● 培训计划 ● 培训档案	● 仪器3Q ● 校验 ● 预防性维护	● 试剂试液 ● 色谱柱	● 分析方法 ● 数据完整性	● 水系统 ● 空调系统

QC日常工作内容				
● 产品检验和放行	● 产品稳定性研究	● 原辅料检验及放行	● 环境监测	● 产品质量回顾

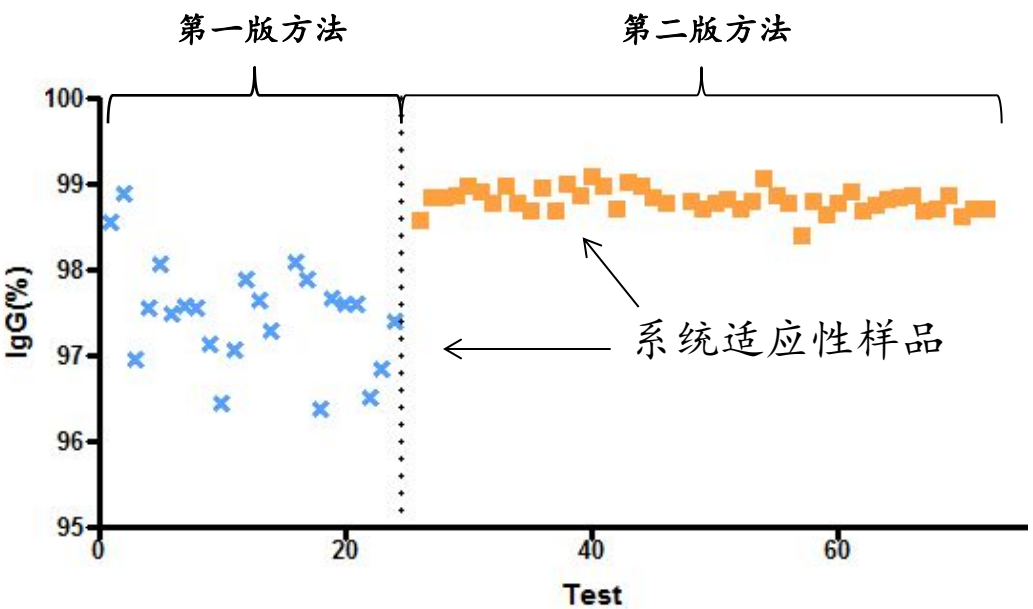
分析方法的持续改进——举例

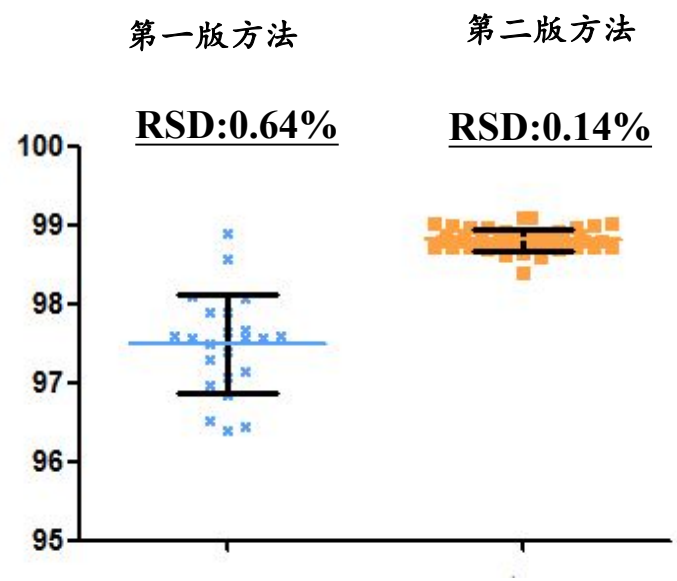


◆第二版方法在样品配制、电泳参数上进行了调整；

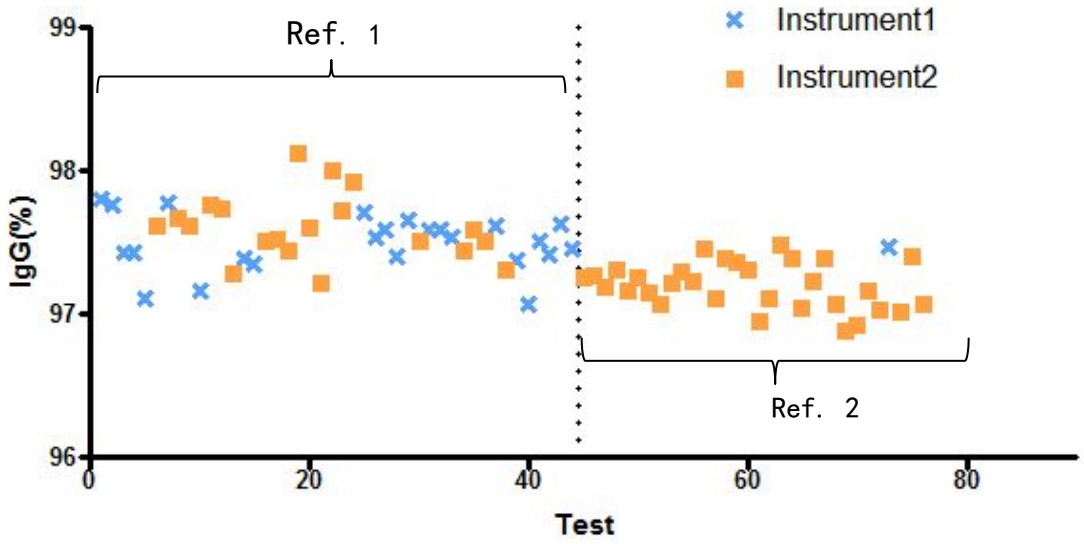
◆第二版方法中间精密度显著优于第一版。

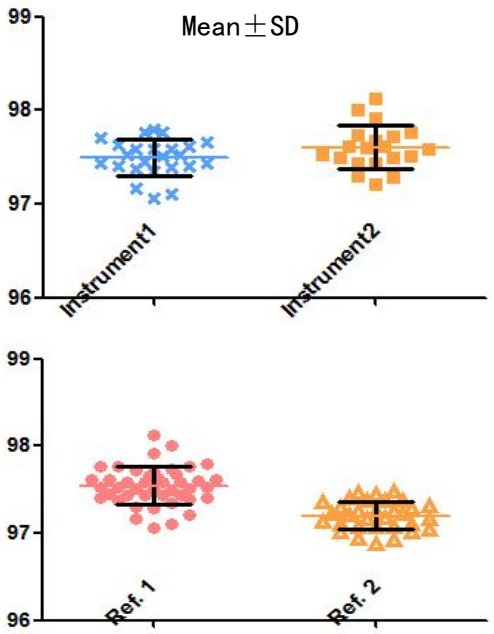
◆ 新旧方法可通过系统适应性样品桥接。





分析方法稳健性的持续评估——举例





对比项		1	2	显著差异
仪器差异	均值 95%区间	97.5 （n=24） （ 97.1 ， 97.9）	97.2 (n=20) （97.1 ， 98.1 ）	否
标准品差异	均值 95%区间	97.5 （n=44） （ 97.1 ， 98.0）	97.2 (n=32) （96.9 ， 97.5 ）	否

稳健的QC方法应在不同仪器、不同操作人员、不同样品中有一致的表现。

丽珠单抗成立于2010年

丽珠单抗

- 抗体大楼1.7万 m²
- 研发实验室，4300m²
- QC实验室，4300m²
- cGMP生产车间，8600m²；同时配备两条全球领先的ABEC 500L 和 1500L不锈钢独立生产线，以及2条200L、1条250L、1条500L、1条2000L一次性生物反应器

丽珠集团

- 占地面积42.7万 m²
- 2015年斥资3亿元用于研发
- 德国IPI设计
- 符合美国FDA、欧盟EMEA以及中国cFDA标准

结语

- 建立完善的质量控制技术平台，对于生物药研发能否成功十分重要。
- 生物药研发早期，开展充分的产品质量分析研究很重要，特别是生物类似药。
- 在临床研究阶段，与临床样品生产相关的一切活动，包括QC，需要在GMP体系下开展。
- 从临床前到临床，需不断完善产品质量研究、分析方法和质量标准。

Thanks you for attention!