

生物药IND申报手册

2019年版



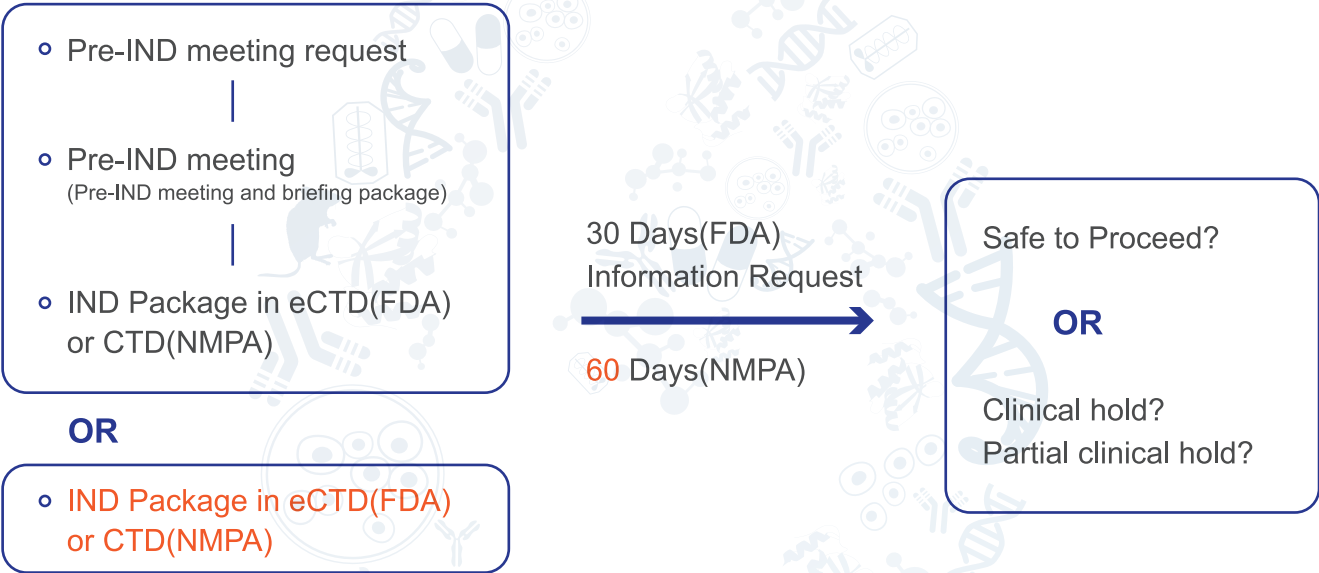
目录

一、引言——什么是IND?	1
二、IND申报流程	1
2.1 Pre-IND meeting	2
2.2 中美IND申报流程	2
三、IND申报攻略	3
3.1 IND申报CMC资料清单	4
3.2 IND申报药理毒理资料清单	5
3.3 关键部分解读	6
3.3.1 稳定细胞系构建	6
3.3.2 细胞培养	8
3.3.3 纯化工艺	9
3.3.4 制剂	10
3.3.5 质量研究与QC	11
3.3.6 稳定性	13
3.3.7 生产管理	14
3.3.8 药理、药代、毒理学实验	15
四、中美IND申报异同及策略	16
4.1 细胞系开发	16
4.2 细胞建库和检定	16
4.3 除病毒工艺验证	17
4.4 质量研究	18
4.5 中试样品生产	18
4.6 药理、药代、毒理学实验	19
五、中美常用政府指南目录	19
六、常见缩写	20

一、引言——什么是IND?

IND, Investigational New Drug, 一般是指尚未经过上市审批, 正在进行各阶段临床试验的新药, 实际应用中, IND或CTA (clinical trial application) 已变成药品上市前人体临床试验的代名词。IND申请可能是一个, 也可能是序贯的一组研究, 其主要目的是提供足够信息来证明药品在人体进行试验是安全的, 以及证明针对研究目的的临床方案设计是合理的。IND主要包括 I、II、III 期临床试验申请, 其中 I、II 期临床试验为初期临床试验, 是疗效的探索阶段; III 期临床试验为扩大临床试验, 是疗效的验证性阶段, 只有在初期临床试验IND获准后, 申请人才可以提交扩大临床试验申请。

二、IND申报流程



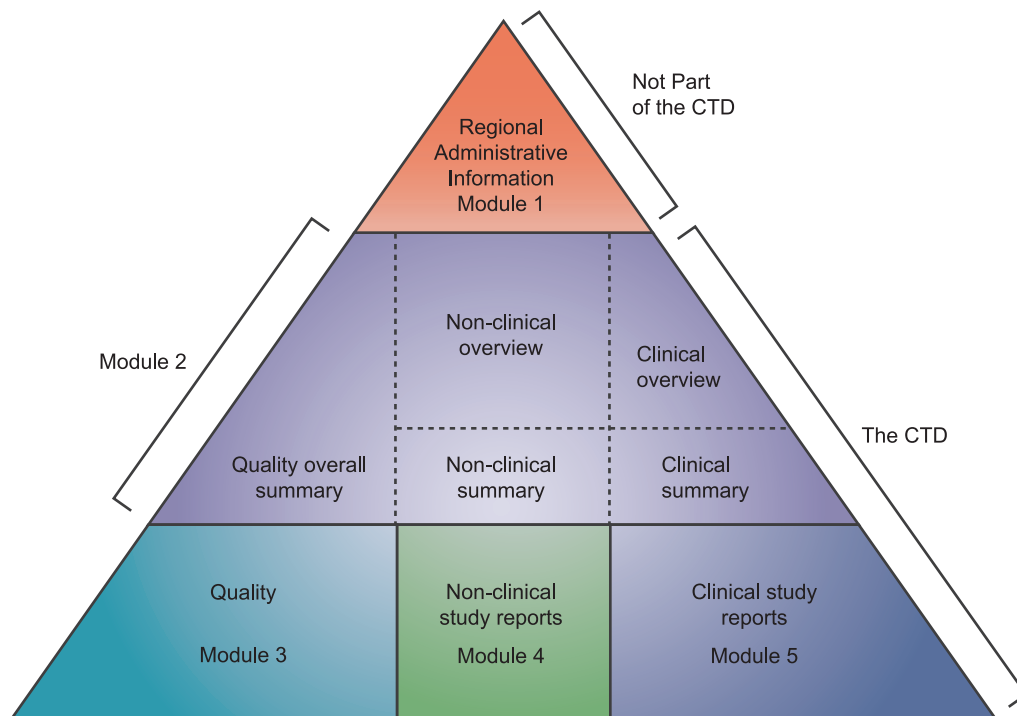
2.1 Pre-IND meeting:

- Pre-IND meeting是IND申报流程的一部分。FDA的IND申报中，Pre-IND meeting 是可选的，而NMPA没有明确说不可以进行该环节。
- 中国IND申报：在Pre-IND meeting中，申请者可针对项目中不确定的内容与CDE的专家沟通。
- 美国IND申报：申请者需要递交meeting request；申请通过后，申请者递交pre-IND briefing Package，即简要的项目介绍，以及疑问汇总。

2.2 中美IND申报流程：

- **中国申报流程：**
 - 申报资料以光盘形式（光盘内的文件格式为CTD格式）递交给总局药审中心。申报者准备在5个工作日（中国）收到受理通知书和缴费通知书后进行及时缴费（国内新药约192000元，国外药物引入约376000元）。
 - 受理之后，根据技术审评中的需求，由总局食品药品审核查验中心组织实施现场核查和抽样，样品送至中检院进行检测。
 - 进度查询：申报需求受理后，可在CDE官网查询。
 - 如果药审中心收到中检院提供的不合格检验报告就会直接不批准临床，也不再发补。
 - 审评审批：自受理之日起60个工作日内，形成审批结论；未给出否定或质疑的意见的，自受理之日起第61个工作日视为同意，申请人即可按照方案开展临床试验。
- **美国申报流程**
 - 申报材料以电子形式（eCTD）递交给Center for Drug Evaluation and Research (CDER)，申报者在30个工作日内如未被要求hold，则可进行临床试验，无收费环节。

Tip: NMPA对申报材料的要求是CTD格式，而FDA对申报材料的要求是eCTD格式；CTD即通用技术文件（Common Technical Document），eCTD即电子版本通用技术文件（electronic Common Technical Document）。通用技术文件是一套用于药品注册的申请档案的规范，旨在用于欧洲，日本和美国。这是一种国际商定的格式，用于编写拟提交给参与国区域监管机构的新药申请。CTD主要由下图几个模块组成。中国目前使用的是CTD格式，尚未开始使用eCTD格式，但正在筹备中，申请者可以密切关注国家政策的动态及发展方向。



The CTD triangle. The Common Technical Document is organized into five modules. Module 1 is region specific and modules 2,3,4 and 5 are intended to be common for all regions.

Tip: IND申请没有通过审评的常见原因:

- 安全性研究不足，不足以支持临床试验诉求
- 临床方案不完整或不具备实施条件
- 产品临床定位不清
- 有安全担忧的情况下的剂量选择问题
- 数据显示存在安全性风险，且与已上市药品比较无优势
- 关键药学研究数据缺失或存在研究质量问题
- 研究数据存在完整性和可靠性问题

三、IND申报攻略

中国和美国IND申报材料一般包括CMC资料、非临床资料（药理、药代、安评等资料）以及临床资料。本手册中将主要针对CMC资料和药理毒理资料进行分析。

3.1 IND申报CMC资料清单

申报者可根据以下清单，在单一文件中分成以下子章节编排撰写申报资料，具体可参考ICH M4Q和生物制品注册分类和申报资料要求。

原料药/原液	基本信息	药品名称	
		结构	
		基本性质	
	生产	生产厂	
		生产工艺和过程控制	
		物料控制	
		关键步骤和中间体控制	
		工艺验证和评价	
		生产工艺开发	
	特性鉴定	结构确证和理化特性	
		杂质	
	质量控制	质量标准	
		分析方法	
		分析方法验证	
		批分析	
		质量标准制定依据	
	对照品		
	容器密封系统		
稳定性	稳定性总结		
	稳定性数据		
制剂	制剂描述和组成		
	处方组成	原料药/原液	
		辅料	
		处方开发	
	制剂	过量投料	
		理化和生物学性质	
	药物开发	生产工艺开发	
		容器密封系统	
		微生物学属性	
		相容性	
生产	生产厂		
	批处方		
	生产工艺和过程控制		

制剂	生产	关键步骤和中间体控制
		工艺验证和/或评价
	辅料控制	质量标准
		分析方法
		分析方法验证
		质量标准制定依据
		人源或动物源性辅料
		新型辅料
	质量控制	质量标准
		分析方法
		分析方法验证
		批分析
	对照品	杂质分析
		质量标准制定依据
	容器密封系统	
	稳定性	稳定性总结
		稳定性数据

3.2 IND申报药理毒理资料清单

药理学	主要药效学
	次要药效学
	安全药理学
	药效学相互作用
药代动力学	分析方法和验证报告
	吸收
	分布
	代谢
	排泄
	药代动力学相互作用（非临床）
	其它药代动力学试验
毒理学	单次给药毒性试验（按动物种属、给药途径排序）
	重复给药毒性试验（按动物种属、给药途径、给药时间排序，包括支持性毒代动力学试验）
	遗传毒性
	• 体外
	• 体内（包括支持性毒代动力学试验）

毒理学	致癌性（包括支持性毒代动力学试验） - 长期试验（以动物种属排序，包括在不能包含在重复给药毒性试验部分或药代动力学试验部分中的剂量探索试验） - 短期或中期研究（包括在不能包含在重复给药毒性试验部分或药代动力学试验部分中的剂量探索试验） - 其它试验
	生殖毒性（包括剂量探索试验和支持性毒代动力学试验） - 生育力与早期胚胎发育毒性试验 - 胚胎-胎仔发育毒性试验 - 围产期发育毒性试验，包括母体功能 - 对后代（幼龄动物）给药和/或进行进一步评价的试验
	局部耐受性
	其它毒理试验（如果有） - 抗原性试验 - 免疫毒性试验 - 机理研究（其他未报告的） - 依赖性试验 - 代谢物试验 - 杂质试验 - 其他试验

3.3 关键部分解读

3.3.1 稳定细胞系构建

3.3.1.1 工程细胞构建

目的基因

- 采用基因重组技术表达的蛋白，需说明目的基因的来源、设计、优化及合理依据，提供目的基因的核苷酸序列（包括对应的氨基酸序列）、克隆方法和鉴定结果。
- 如目的基因通过免疫动物亲代细胞获得，应提供免疫原（包括来源、性质、种系）、免疫动物、免疫方式、杂交瘤细胞制备、单克隆筛选、人源化改造等研究资料。
- 测序图谱

表达载体

- 提供表达载体的名称、来源、结构和遗传特性。如对表达载体进行基因操作，应评估引入辅助基因（如GFP）的表达调控状态、表达产物残留量、以及对制品安全性和有效性的潜在影响等。

重组质粒的构建

- 提供重组表达质粒构建、克隆筛选方法和酶切鉴定结果，插入基因和表达载体两侧端控制区的核苷酸序列和测序彩图，比较说明测序结果是否符合设计（理论）序列。

宿主细胞

- 提供宿主细胞（菌）的名称、来源、培养特性、生物学特性（基因型和表型）、传代历史（包括驯化过程）、鉴定结果等

细胞株的构建

- 说明是否曾进行基因操作引入外源基因序列，如有改造需对突变、引入的基因或蛋白进行安全性评估。
- 明确重组表达载体导入宿主细胞（菌）的方式以及克隆、筛选方法。分析载体在宿主细胞内的状态（是否整合到染色体内）、拷贝数以及宿主与载体结合后的遗传稳定性，启动和控制克隆基因在宿主细胞中的表达所采用的方法及水平。应对选定的工程细胞（菌）进行充分的目的基因全序列确认，以保证用于编码和表达目的产物的基因在初始核酸序列上的正确性。对选定的工程细胞（菌）株进行命名。

3.3.1.2 种子库

- 提供种子库的建立、检定、保存及传代稳定性的研究资料。
- 种子库的制备、管理和检定应符合现行版《中华人民共和国药典》中“生物制品生产检定用菌毒种管理规程”和“生物制品生产检定用动物细胞基质制备及检定规程”等的相关要求。
- 说明各级种子库传代方法、制备过程、建库规模和限传代次，明确各级种子库的保存方法、地点、条件及预计使用寿命。
- 提供全面系统的各级种子库（包括代表临床样品或拟上市制品的生产终末细胞）的检定报告，对于已知携带内源逆转录病毒等的细胞株，如CHO细胞等，则应能证明在生产纯化过程可使之灭活或清除（在附录的外源因子安全性评价模块中提供详细信息）。
- 至少需提供主种子库目的基因测序报告，确认目的基因序列、启动子和操纵子区域等相关元件编码序列的正确性。
- 对表达载体基因拷贝数、基因插入或缺失、整合位点数量等情况进行分析。

- 尽可能模拟实际生产条件（如去除选择压力）对种子库进行连续传代培养，分析种子库生长特性（如生长、代谢、活率等）、遗传特性（如基因拷贝数、核苷酸序列、单克隆性等）、蛋白表达（表达量、生物学活性、关键质量属性等）等稳定性，评估是否支持未来规模生产过程中允许的最高细胞倍增数或传代代次。应关注传代稳定性研究中出现影响产品质量改变或生产可行性的情况，如氨基酸序列改变、重要糖基化改变等。

Tip 1: 各级种子库的检定报告：中国IND申报可在中检院或武汉大学中检院（即：伽创）进行，美国IND申报可在Bioreliance或Charles River进行。

Tip 2: 细胞库的建立是为了保证重组单抗生产的稳定性及批间一致性。细胞库分为三级管理：即原始细胞库（PCB）、主细胞库（MCB）及工作细胞库（WCB）。

原始细胞库：重组工程细胞经过克隆培养形成的均一细胞群体，通过检定可用于重组单抗的生产，在特定条件下，将一定数量、成分均一的细胞悬液定量均匀分装于安瓿，于液氮或-130摄氏度以下冻存，即为原始细胞库，供建立主细胞库用。

主细胞库：取原始细胞库细胞，经过一定方式进行传代、增殖后均匀混合成一批，定量分装保存于液氮或-130摄氏度以下，经全面检定合格后，即为主细胞库，用于工作细胞的制备。生产企业的主细胞库最多不得超过2个细胞代次。

工作细胞库：工作细胞库的细胞由MCB细胞传代扩增制成。由MCB的细胞经传代扩增，达到一定代次水平的细胞，合并成一批均质细胞悬液，定量分装于安瓿或适宜的细胞冻存管，保存于液氮或-130摄氏度以下备用，即是工作细胞库。生产企业的工作细胞库必须限定为一个细胞代次，冻存细胞的传代水平需确保细胞复苏后传代增殖的细胞数量能满足生产一批制品。复苏后细胞的传代水平不应超过批准用于生产的最高限定代次。

3.3.2 细胞培养

• 工艺流程图

按工艺步骤提供生产工艺流程图。

对于发酵工艺，提供从种子复苏至产物收获的所有工艺操作步骤和工艺中间体的信息，标明每个操作步骤的工艺参数信息，如pH、温度、溶氧、搅拌速度、细胞倍增水平、细胞密度、发酵体积、培养时间、维持时间等。

• 工艺描述（名称，生产厂）

以注册批为代表，按工艺流程顺序描述工艺操作，明确关键生产步骤、关键工艺参数以及中间体的质控指标。

对于发酵工艺，应明确培养模式、规模、培养基和其他添加组分、工艺过程控制（包括在线检测、操作参数、工艺中间体控制等）、内控要求（包括细胞/菌密度、活率、诱导表达条件、微生物污染监测等）、培养物废弃指标等。如需在各工艺步骤、设备、区域、建筑物中转运物料，应明确运输和贮存条件。提供培养液/菌体收集，包涵体复性工艺条件等。

生产工艺表述的详略程度应能使本专业的技术人员根据申报的生产工艺可以完整地重复生产过程，并制得符合标准的产品。

- **其他原材料**

提供生产用其它原材料的来源及质量标准

按照工艺流程工序，以表格形式列明生产中使用的其他原材料的名称、质量标准、生产商、使用步骤等。

提供生产用原材料的质量控制信息，明确引用标准，或提供内控标准（包括项目、检测方法和限度），并提供必要的方法学验证资料。

除生产过程中使用的主要原材料外，还应提供包括工程细胞/菌建立、筛选、建库等步骤使用的原材料（如动物血清、培养添加物），以及生产过程中使用的一次性细胞培养袋、树脂填料、除病毒滤器、除菌滤器等相应信息。

- **关键步骤和中间体控制**

列出所有关键步骤及其工艺参数控制范围，提供研究结果支持关键步骤确定的合理性以及工艺参数控制范围的合理性。

列出生产工艺中间体的质量控制标准，包括项目、方法和限度范围，并提供必要的方法学验证资料。

Tip: 即申报者需说明目前的工艺流程可获得质量稳定、可靠的产品。

- **工艺验证和/或评价**

发酵生产工艺验证应关注的主要工艺性能指标包括：细胞（菌）活率、活细胞（菌）密度、代谢产物、目的产物表达量等。

Tip: 重组单抗生产的前提和基础是经过全面检测的生产细胞，生产细胞应具有共同的原始细胞，保持相同的遗传和生物学特性，无病原微生物污染，在特定的培养环境和条件下持续稳定地表达携带的抗体基因，表达生产的抗体产品质量一致。

3.3.3 纯化工艺

- **工艺流程图**

对于纯化工艺，提供从收获产物至原料药/原液所有工艺操作步骤和工艺中间体的信息，标明每个操作步骤的工艺参数信息，包括体积、pH、关键工艺操作时间、维持时间、温度、洗脱条件、组分收集、中间体贮存等。

- **工艺描述**

对于纯化工艺，应明确分离原理，规模、缓冲液和其他试剂信息、工艺过程控制（包括在线检测、操作参数、工艺中间体控制等）、内控要求（如纯度、生物学活性、收率、杂质残留等）等，应明确病毒灭活/去除关键工艺步骤的工艺参数或操作条件。针对过滤膜和层析介质，应明确清洗/再生条件和循环使用次数（设备/填料信息、循环使用和再生处理的验证信息均需要明确）。应明确纯化工艺过程所涉及的工艺中间体或原料药/原液返工步骤的操作标准。如需在各工艺步骤、设备、区域、建筑物中转运物料，应明确运输和贮存条件。

- **其他原材料**

除生产过程中使用的主要原材料外，还应提供包括工程细胞/菌建立、筛选、建库等步骤使用的原材料（如动物血清、培养添加物），以及生产过程中使用的一次性细胞培养袋、树脂填料、除病毒滤器、除菌滤器等相应信息。

- **工艺验证和/或评价**

纯化工艺验证应关注的主要工艺性能指标包括：产品纯度、生物学活性、工艺步骤收率、产品相关杂质和工艺相关杂质的去除等。应优先采用连续不间断的生产方式，如需贮存中间产物，应对中间产物的贮存条件进行验证，证明该贮存条件不影响后续工艺用物料的质量指标和制品在有效期内的稳定性。

提供除病毒工艺验证报告。

- **容器密封系统**

提供制品所用容器和包材的描述，包括各容器/包材的来源、规格（必要时提供关键尺寸及图示）、材质、结构组成、质量标准 and 批准证明性文件/关联申报受理单/核准编号等。

非功能性次级包材，仅提供简要描述；功能性次级包材则应当提供其额外的信息。

应说明包材和容器的适用性，例如材料的选择依据和合理性，避光防潮性能，构成材料与原料药/原液的相容性情况，包括吸附和浸出，以及安全性评估。

3.3.4 制剂

3.3.4.1 制剂描述和组成

- 说明具体的剂型，并列表说明单位剂量产品的处方组成，列明各成分在处方中的作用，执行标准。如有过量加入的情况需给予说明。说明包材和容器的种类。

3.3.4.2 药物开发

- 处方组成、制剂研究（处方开发、过量投料、理化和生物学性质）、生产工艺开发、容器密封系统、相容性批处方（表格）
- 以表格的方式列出既定生产规模产品的批处方组成，列明各成分执行的质量标准。如有过量加入的情况需给予说明。

3.3.4.3 生产工艺和过程控制（工艺流程图、工艺描述、批次和规模定义）

- 按制备工艺步骤提供完整、直观、简洁的工艺流程图，应涵盖所有的工艺步骤、各物料的加入顺序，并标明关键步骤以及进行中间体检测的环节。
- 以注册批为代表，按工艺流程描述工艺操作（包括包装步骤），明确生产规模、关键生产步骤、关键工艺参数

- 以及中间体的质控指标。重点对辅料和主药的配比、混合顺序、过滤器完整性、无菌过滤前的生物负载、灌装体积、生产环境等进行控制。
- 提供注册批次的生产规模及依据。申报临床阶段如工艺规模非商业化生产规模，还需评估工艺放大到拟定商业化的可行性。通常，关键性临床所用样品的工艺、规模等需与商业化产品一致。

3.3.4.4 关键步骤和中间体控制

- 列出所有关键步骤及其工艺参数控制范围。提供研究结果支持关键步骤确定的合理性以及工艺参数控制范围的合理性。
- 列出中间体的质量控制标准，包括项目、方法和限度

3.3.4.5 工艺验证和/或评价

- 提供工艺验证资料，包括工艺验证方案和验证报告，工艺验证须在预定的工艺参数范围内进行。
- 申报临床试验注册时应提供与临床试验用样品工艺、规模等一致的生产工艺确认和评价资料，确认的工艺应具有较好的重现性和稳健性。

3.3.4.6 制剂开发报告

- 制剂开发报告中应包含辅料控制（名称，剂型）及相应质量标准（名称，剂型）。
- 列表说明所述辅料的供货商、执行标准、处方中的功能。对于辅料浓度，以及能够影响制剂性能的辅料特征也应予以讨论。

3.3.4.7 容器密封系统

- 提供制品所用容器和包材的描述，包括各容器/包材的来源、规格（必要时提供关键尺寸及图示）、材质、结构组成、质量标准和批准证明性文件/关联申报受理单/核准编号等。

3.3.4.7 稳定性研究内容

- 包括影响因素试验（如高温、光照、振荡、冻融、氧化等）

3.3.5 质量研究与QC

3.3.5.1 分析方法及方法验证

提供质量标准中各项目的具体检测方法。

按照现行版《中华人民共和国药典》附录以及《生物制品质量控制分析方法验证技术一般原则》等指导原则提供方法学验证资料，可按检查方法逐项提供，以表格形式整理验证结果。

3.3.5.2 对照品

详细提供不同开发阶段的参考品或对照品的详细信息，包括含量、支数、处方、包装容器、用途、保存条件等，以及制备过程、结构表征、质量标准、标定依据（包括含量、纯度、生物学活性等）、桥接试验、检验报告、稳定性研究（定期复检）结果等，关注对照品在产品开发过程中的可溯源性。

Tip 1: 什么是对照品？

对照品，特指在质量研究和放行检验中使用的理化对照品、活性参考品等。

标准物质对于抗体的质量控制非常必要，对于某些质控项目甚至是必不可少的。质控标准物质主要包括两种：理化对照品及活性标准品。**理化对照品用于抗体的理化性质分析，如相对分子质量、等电点、肽图等；活性标准品用于抗体活性的测定。**

在抗体药物的常规质控中，对每批产品进行全面的结构分析不仅成本昂贵，且工作量巨大、难以完成，此时，理化对照品显得尤为必要：只要对对照品进行充分的结构分析，证明其结构正确；同时在常规质控中将待测产品与之同时测定，如果结果一致，可基本说明待测样品结构正确。理化对照品的结构分析应当包括一级结构确证和糖链分析。

抗体活性的测定：一般将待测样品与活性标准品平行操作，并且以样品活性的测定结果占标准品的百分比作为评价指标。活性标准品分为三个级别：国际参考品、国家标准品、工作标准品。

国际参考品：由WHO指定的实验室（如英国NIBSC）制备，经专家委员会讨论通过后，由WHO总干事颁布，被国际公认为最高级别的标准品。

国家标准品：系指国家的有关权威机构用国际标准品标定的，或自行研制的（尚无国际标准品者）用于定量测定某一制品效价或毒性的标准物质，供国家内部使用，其生物活性以国际单位(IU)或单位(U)表示。国家标准品应与国际参考品或其他国家的国家标准品进行比对。

工作标准品：实验室或生产厂家自行制备的标准品，工作标准品必须与国际参考品或国家标准品进行比对或校正。

Tip 2: 桥接实验：指在新地域进行的附加试验，以提供与新地域人群有关的药代动力学或有效性、安全性、适宜剂量以及给药方案的信息，允许将原地域的临床数据外推到新地域。

3.3.5.3 特性分析

结构确证和理化特性

- 提供结构确证用样品的批号，如用到对照品，应说明对照品来源、批号。
- 结合多种结构确证手段对样品结构进行解析，包括一级结构、二级结构和高级结构。如质谱分子量（完整/还原/亚单位/去糖）、氨基酸组成、N端/C端氨基酸序列或全序列分析、酶解肽图（对于抗体需包括CDR区鉴别）、肽段覆盖率、肽质量指纹图谱、二硫键，以及检测高级结构的方法，如圆二色谱、差示扫描量热法、傅里叶变换红外光谱法、X射线晶体衍射、核磁共振等。对于化学偶联修饰的制品，还应对修饰位点等进行确证。提供详细的理化性质信息，包括：分子大小变体、电荷异质性、消光系数、等电点、游离巯基、糖基化修饰（包括修饰位点、糖链结构、糖型、唾液酸含量等）、其他翻译后修饰（如N端/C端异质性、氧化、脱酰胺、焦谷氨酸环化、天冬氨酸异构化、糖化等）等。应采用适宜的方法进行定性和/或定量分析研究。对于化学偶联修饰的制品，应对修饰基团/蛋白比例、修饰度等进行分析。
- 提供详细的生物学活性信息，包括采用适宜的分析方法，并结合制品预期的作用机制和作用特点进行测定（不限于一种），如亲和力、结合活性、基于动物/体外细胞的测定方法等。

3.3.5.4 杂质

产品相关物质包括：聚体、降解产物、电荷异构体、疏水性、翻译后修饰相关变体等。对于化学偶联修饰的制品，应对游离修饰基团、非偶联蛋白比例等进行分析。

工艺相关杂质包括：宿主细胞蛋白质、宿主细胞DNA、亲和色谱柱的脱落抗体或配基、细菌内毒素、源自培养液/纯化试剂/工艺步骤等添加物（如胰岛素、消泡剂、有机溶剂、抗生素、蛋白酶、活化/偶联试剂等），必要时可采用特定的工艺将其去除或降低至可接受的水平。

对于生产过程中加入对人有潜在毒性的物质，应制定产品中的限量标准并提供依据。

3.3.5.5 质量标准制定依据

说明各检查方法选择和限度确定的依据，并结合安全有效性研究结果及稳定性考察数据等分析评价拟定标准的合理性，包括是否符合我国与ICH颁布的指导原则、各国现行版药典的要求、与原研药质量对比研究的结果等。

申报生物类似药的，还需通过适当的研究和研究推论进行与已上市产品的质量对比研究。如按照生物类似药申报，还需按照有关技术指导原则，开展相应的质量比对研究。

3.3.5.6 批分析（名称，剂型）

按照质量标准格式提供不少于三批制剂的批分析汇总数据。

3.3.6 稳定性

3.3.6.1 原液稳定性

稳定性研究的原液样品说明样品批号、生产日期、生产地点、批量、内包装材料等信息。

稳定性研究内容包括影响因素试验（如高温、光照、振荡、冻融、氧化等）、加速试验和长期试验，合理制定考察时间，考察项目要全面，影响制品安全性、有效性以及敏感的稳定性的考察指标会重点关注。

3.3.6.2 成品稳定性

DP稳定性要求：提交申报资料时至少包括三批代表性工艺规模样品的6个月加速试验和12个月的长期试验数据，样品的有效期和贮存条件将根据长期稳定性研究的情况最终确定。

代表性工艺规模：是指生产设备的操作原理与材质、原辅料的质控要求、触犯工艺及流程等与临床试验样品或商业化生产样品工艺规模一致。

3.3.6.3 DP稳定性数据

稳定性研究提供制剂批号以及对应原料药/原液批号、规格、生产日期、生产地点、批量、内包装材料等信息。

稳定性研究内容包括影响因素试验（如高温、光照、振荡、冻融、氧化等）、加速试验和长期试验，合理制定考察时间，考察项目要全面，影响制品安全性、有效性以及敏感的稳定性考察指标应重点关注。根据品种特点，开展模拟临床使用情况的稳定性研究，并将研究信息纳入产品说明书。

如按照生物类似药申报，提供按照有关的指导原则开展候选药与参照药的稳定性比对研究。

3.3.7 生产管理

申报者需要提供

- 生产厂的名称（全称）、地址、职责、电话、传真以及生产和检验场所的具体位置（具体到厂房/车间、生产线）、电话、传真等。
- 列表提供本品实际生产线的主要和特殊设备的相关信息，如型号、关键技术参数、操作原理、正常的批量范围、用于的工艺步骤等。并说明与现有最大的生产批量的匹配性。
- 提供图示阐述包括原材料，人员，废料和中间体在生产区内外的流动情况的生产流程。

3.3.7.1 工艺验证/确认报告

3.3.7.2 批生产记录

- 提供确定用于临床试验的工艺、规模及生产线后所生产的连续三批样品的完整、规范的批生产记录复印件。

3.3.7.3 批检验记录

- 提供与批生产记录对应的批检验记录和检定报告复印件（含相应的图谱）

3.3.7.4 制造和检定规程草案

- 一般分为基本要求、制造部分、检定部分、保存及运输和有效期等。包括细胞库建立和管理的要求。
- 基本要求可参考药典。
- 细胞库等应参考药典要求说明细胞库建立和管理的要求。
- 生产工艺步骤和参数设置应符合企业实际生产中采用的条件，原料药/原液、半成品、成品的检定标准应不低于药典要求，并将主要原辅料来源、质量标准以及非药典检测方法作为附录纳入规程。
- 申报生产或补充修订时，应详述对审定的制造和检定规程的修改内容、提供修改依据并分析合理性。
- 各种外检报告（细胞库，UPB，EOPC检测报告,除病毒验证报告等；辅料，包材外检报告，COA等）。

Tip 1: 检定规程的起草说明应对检定项目的设置，检定标准（范围）的规定，检定方法的选择等详细说明其理由，如检定标准范围的规定应提供详细实验数据和统计分析资料说明规定的理由。检定方法标准操作规程均应附上SOP，SOP中应对试剂配制、仪器设备、试验操作步骤、数据分析、判定标准等进行详细叙述，并对操作的注意事项进行说明，文字叙述应与实际操作过程相一致。

Tip 2: 批检验、批生产、制造和检定规程草案在FDA申报中不需要，为NMPA申报特有。

3.3.8 药理、药代、毒理学实验

一般在非临床研究综述中对药物的药理学、药代动力学、毒理学研究进行综合性评价。

3.3.8.1 药效试验

临床前有效性评价应注意：

- 药效学研究的方法（包括体外实验和体内实验）；
- 给药方式（常见给药方式为：预防性给药，治疗性给药和防治结合的给药方式）；
- 供试品的选择：在预实验阶段或制剂浓度达不到药效剂量要求时，可考虑采用原料药做试验，要求符合暂定的质量标准。如果用制剂做试验，要求处方固定，制备工艺、药品质量标准应基本稳定。应提供书面的供试品的质检报告。
- 临床前有效性评价中动物模型的选择：动物模型分为自发性动物模型（突变系的遗传疾病和近交系的肿瘤模型，如高血糖小鼠、肥胖症小鼠、高血压大鼠等）及诱发性或实验性动物模型（通过化学、物理、生物等因素，人工诱发器官、组织或全身性损害，如家兔发热模型、大鼠佐剂性关节炎模型、四氧嘧啶所致糖尿病大鼠等）两大类。要求选择的模型具有公认性，与临床疾病的具有相似性。
- 临床前有效性评价中实验动物的选择：实验动物的三个特殊要求：人工培育，遗传背景清楚；生活环境设施应达国标中的等级标准；专门用于科研、教学、生产、检定、实验等。
- 有效剂量的选择：主要药效学试验应设三个剂量组，犬与猴等大动物可设2个剂量组；通常按等比数原则，整体动物剂量按2倍或3.16倍递增，离体器官剂量按3倍或10倍递增；安全范围较小的药物可采用等差级数分组；应尽量作出量-效和时-效关系。进行药效对比时，一般选用中效剂量。

3.3.8.2 药代动力学研究实验设计

- **动物选择**：创新性药物应选用两种或两种以上的动物，其中一种为啮齿类动物；另一种为非啮齿类动物（如犬、小型猪或猴等）。其他药物，可选用一种动物，首选非啮齿类动物。
- **剂量选择**：动物体内药代动力学研究应设置至少三个剂量组，低剂量与动物最低有效剂量基本一致，中、高剂量按一定比例增加。不同物种之间可根据体表面积或药物暴露量进行剂量换算。
- **给药途径**：应尽可能与临床用药一致，也要兼顾药效学研究和毒理研究的给药途径。
- **重复给药**：对于临床需长期给药或有蓄积倾向的药物，应考虑进行多次（重复）给药的药代动力学研究。多次给药试验时，一般可选用一个剂量（有效剂量）。根据单次给药药代动力学试验结果求得的消除半衰期，并参考药效学数据，确定药物剂量、给药间隔和连续给药的天（次）数。

3.3.8.3 毒理学

毒理学实验需要进行单次给药毒理实验（按动物种属、给药途径排序）和重复给药毒理试验（按动物种属、给药途径、给药时间排序，包括支持性毒代动力学试验）。此外还需要进行生殖毒性（包括剂量探索试验和支持性毒代动力学试验）、遗传毒性试验、依赖性实验和局部毒性实验。

四、中美IND申报异同及策略

开发者在进行中美两地IND申报时，需注意在细胞系开发、细胞系建库及检定、除病毒工艺验证、质量验证、中试样品生产五个方面上，中国和美国的要求略有不同。开发者应对比中国和美国的标准，按高标准进行实验设计与开发。

4.1 细胞系开发

	NMPA	FDA	中美双报
单克隆性	两轮有限稀释后<0.5 cell/well 或更高标准 最好有证明单细胞的图像	• 两轮有限稀释后<0.5 cell/well • 两轮Clonpix • 一轮有限稀释后<0.5 cell/well+细胞拍照 • FACS+细胞拍照 • FACS+一轮有限稀释 • Clonpix+一轮有限稀释	• 两轮有限稀释后<0.5 cell/well • 两轮Clonpix • 一轮有限稀释后<0.5 cell/well+细胞拍照 • FACS+细胞拍照 • FACS+一轮有限稀释 • Clonpix+一轮有限稀释

4.2 细胞建库和检定

	NMPA	FDA	中美双报
细胞检定	MCB, WCB, EOPC	MCB, WCB (非必需),UPB	MCB, WCB, EOPC, UPB
检定项目	细胞检定符合中国药典要求 (中检院, 伽创) 检定项目: • 细胞鉴别试验 • 无菌检查 • 支原体检查 • 细胞内外源病毒因子检查	细胞系检定符合美国药典要求 (Bioreliance, Charles river, Wuxi) 检定项目*: • 细胞鉴别试验 • 无菌检查 • 支原体检查 • 细胞内外源病毒因子检查	找国外检测机构检测, CDE接受国外检测机构对 细胞库的检测数据。

*MCB, WCB,EOPC,UPB的具体检测项目不完全相同，申报者可查询药典确认具体检测项目要求。

4.3 除病毒工艺验证

工艺步骤	NMPA	FDA	中美双报
低pH或有机溶剂/ 去污剂去病毒法	• 2种病毒 (MuLV, PrV) • 3批 • 动力学曲线 • (每步要求LRV值大于4 Log)	• 1 种病毒 (MuLV) • 1 批GMP批次, 重复验证	• 2批样品按照NMPA标准 • 1批样品按照FDA标准
纳滤	• 2种病毒 (2种病毒 (MuLV, PrV)) • 3批 • 中间体取样 • (每步要求LRV值大于4 Log)	• 2 种病毒 (MVM, MuLV) • 1 批GMP批次, 重复验证 • 中间体取样做MVM	
阴离子交换层析	ND	• 2 种病毒 (MVM, MuLV) • 重复验证 • 有限取样计划	
层析	ND	可选	

Reo-3: 呼肠孤病毒

MVM: 小鼠细小病毒

MuLV: 鼠白血病病毒

PrV: 伪狂犬病毒

LRV: 对数下降值

S/D: 有机溶剂/去污剂去病毒法: 有机溶剂, 如: 磷酸三丁脂 (TNBP) 和非离子化的去污剂, 如: Triton X-100或吐温-80结合可以灭活脂包膜病毒, 但对非脂包膜病毒无效

Reminder: 抗体纯化的重要目的是有效去除灭活收料液中的内源逆转录病毒样颗粒, 以及未检测到的外源病毒。抗体生产常用的CHO和NSO细胞系都分泌内源逆转录病毒样颗粒, 这些颗粒不具备感染能力, 但为了安全, 需要加以清除。

中美IND申报相比较而言, 主要区别在于模式病毒种类不同以及工序段不同。病毒种类繁多, 对病毒去除灭活的敏感度不同, 需要使用有广泛代表性的病毒作为模型病毒加以研究和验证。美国FDA申报中, 逆转录病毒、细小病毒和疱疹病毒是病毒去除灭活验证最常使用的模型病毒。

除了低pH孵育是专属的病毒灭活步骤, 病毒过滤也是一个专属病毒去除步骤, 即通过纳米级的孔径截获抗体中的病毒, 其受工艺本身变化的影响很小, 是可靠的去病毒步骤, 特别是对于细小病毒, 低pH孵育对细小病毒无去除灭活作用, 需要20 nm滤器作为有效的小粒径病毒去除步骤。

4.4 质量研究

	NMPA	FDA	中美双报
放行方法	微限菌种 (CMCC) DP异常毒性	微限菌种 (ATCC) DS支原体放行	微限菌种 (ATCC+CMCC) DS支原体放行+DP异常毒性 若方法不同，需要双重放行
结构表征	3 批	1 批	3批
聚体研究	主要利用SEC-HPLC放行检测和研究聚体	结合SEC-MALS和SEC-HPLC，用于聚体研究和放行检测	结合SEC-MALS和SEC-HPLC，用于聚体研究和放行检测
质量标准	IND申报需要完整的质量标准，包括电荷异质性和糖型	提供质量标准，可以有较宽的放行范围，某些方法不需要质量标准，只需报告结果（例如电荷异构和糖型检测），安全性相关的质量标准	IND申报需要完整的质量标准，包括电荷异质性和糖型
方法验证	IND申报前，主要方法均需进行比较系统的方法学验证，并出具方法验证报告	安全性相关的分析方法进行方法验证，其余方法做确认即可	IND申报前，主要方法均需进行比较系统的方法学验证，并出具方法验证报告
杂质研究	- 产品相关杂质：重点关注电荷异质体，非单抗类片段聚体 - 工艺相关杂质：HCP, HCDNA, 残留protein A	- 产品相关杂质：重点关注电荷异质体，非单抗类片段聚体 - 工艺相关杂质：HCP, HCDNA, 残留protein A, 消泡剂，抗结团剂，筛选试剂MSX/MTX，有机试剂残留	- 产品相关杂质：重点关注电荷异质体，非单抗类片段聚体 - 工艺相关杂质：HCP, HCDNA, 残留protein A, 消泡剂，抗结团剂，筛选试剂MSX/MTX，有机试剂残留

4.5 中试样品生产

	NMPA	FDA	中美双报
中试生产	3批非GMP生产 或 2批非GMP生产+1批GMP生产	1批药理毒理样品+1批GMP生产	2批非GMP生产+1批GMP生产
长期稳定性	- 原液稳定性24-36个月 - 制剂稳定性24-36个月 6个月即可提交申报材料	- 原液稳定性24-36个月 - 制剂稳定性24-36个月 3个月即可提交申报材料	- 原液稳定性24-36个月 - 制剂稳定性24-36个月 - 按照两地不同时间表 - 提交申报材料
原材料使用	中国或美国药典药用级	推荐使用美国药典药用级	一般用美国药典药用级
原材料放行	COA放行，用于人体的样品进行关键项目检测	- COA放行 - 建议关键项目检测	- COA放行 - 建议关键项目检测
辅料和包材全检	全检	先有方法确认或验证，再进行全检	先有方法确认或验证，再进行全检

4.6 药理、药代、毒理学实验

	NMPA	FDA	中美双报
药理	/	同报NMPA	同报NMPA
药代	/	同报NMPA	同报NMPA
毒理	/	国外病理专家同行评议	国外病理专家同行评议
		毒理研究资料SEND格式	毒理研究资料SEND格式

Reminder: SEND是美国FDA的非临床数据交换标准，对申报资料的格式进行了规定，一般毒性、致癌性和安全药理研究需要遵从于SEND。



五、中美常用政府指南目录

- ◆ 《药品审评中心与注册申请人沟通交流质量管理规范（试行）》
- ◆ 《药品生产质量管理规范》
- ◆ 《中国药典》“生物制品生产检定用动物细胞基质制备及检定规程”及“重组制品生产用哺乳动物细胞质量控制技术评价一般原则”
- ◆ 《生物类似药研发与评价技术指导原则》
- ◆ 《人用单克隆抗体质量控制技术指导原则》
- ◆ 《生物制品质量控制分析方法验证技术一般原则》
- ◆ The Common Technical Document For The Registration Of Pharmaceuticals For Human Use: Quality-M4Q (R1).
- ◆ Formal Meetings Between the FDA and Sponsors or Applicants of PDUFA Products Guidance for Industry.
- ◆ Content and format of INDs for phase 1 studies of drugs, including well-characterized, therapeutic, biotechnology-derived products.
- ◆ Points to consider in the manufacture and testing of monoclonal antibody products for human use.
- ◆ Supplement to the Points to Consider in the Production and Testing of New Drugs and Biologic.
- ◆ Points to Consider in the Characterization of Cell Lines Used to Produce Biologicals.

六、常见缩写

IND: Investigational New Drug
NDA: New Drug Application
eCTD: Electronic Common Technical Document
CoA: Certificate of Analysis
EOPC: End of Production Cell
UPB: Unprocessed Bulk Material
SEND: Standards for Exchange of Nonclinical Data
CDER: Center for Drug Evaluation and Research
DS: Drug Substance
DP: Drug Product
HCP: Host Cell Protein
HCDNA: Host Cell DNA

*由于法规的实时变化，本文中CDE和FDA官方网站不同的，请以官网信息为准。

www.GenScript.com.cn

南京市江宁高新园雍熙路28号

电话: 400-025-8686-5821

邮箱: protein@genscript.com.cn

