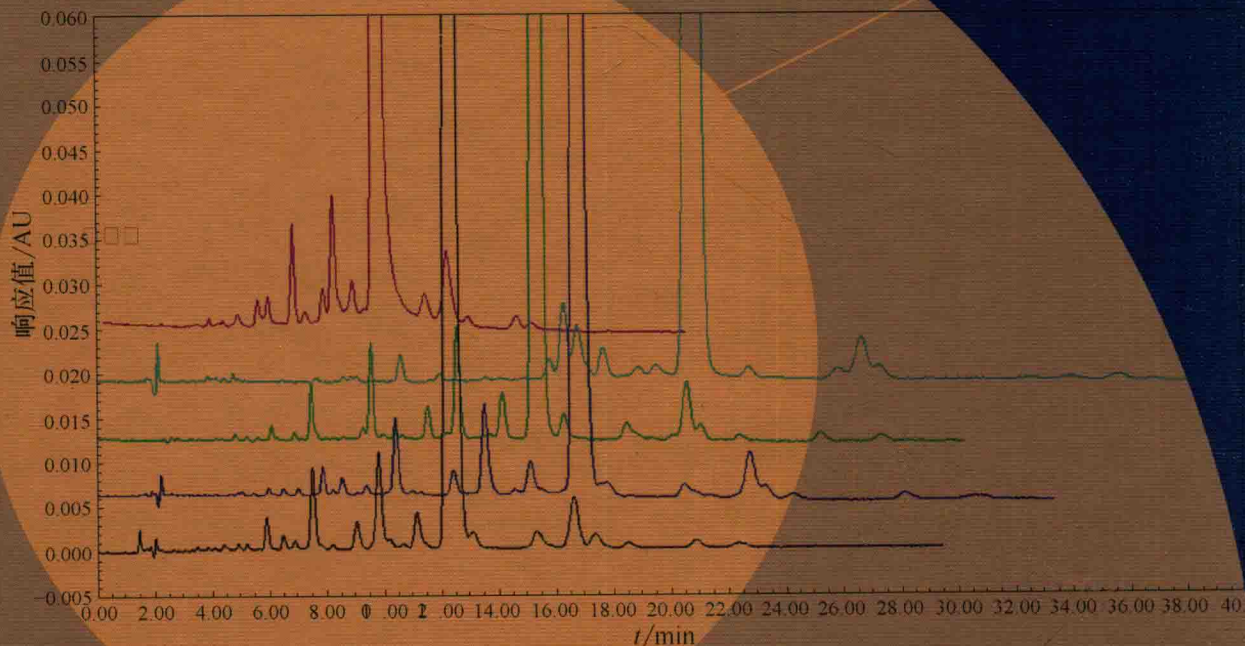


药物杂质谱分析

Impurity Profiling of Pharmaceuticals

胡昌勤 著

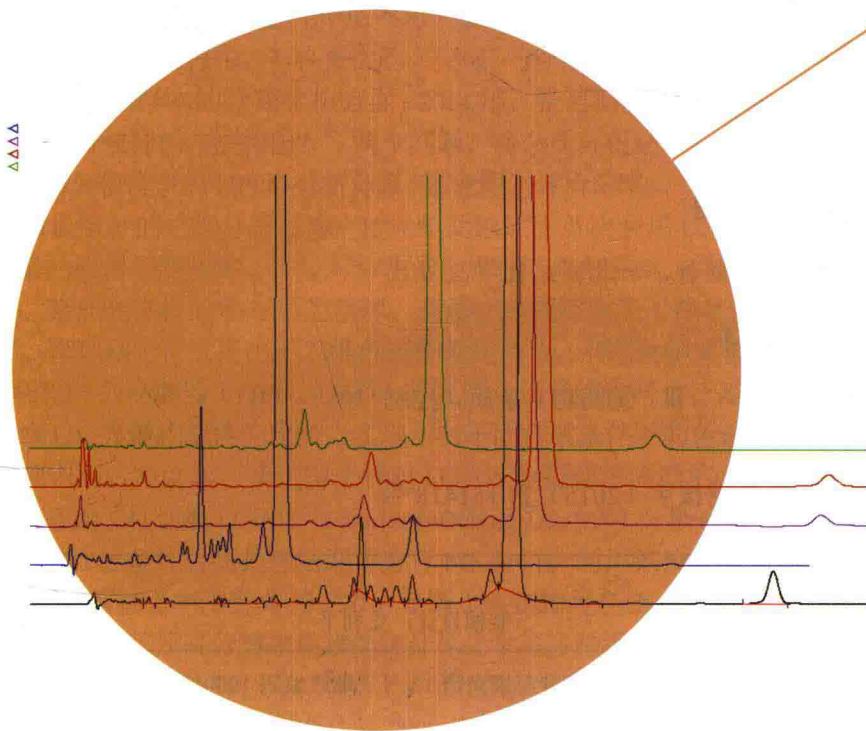


化学工业出版社

药物杂质谱分析

Impurity Profiling of Pharmaceuticals

胡昌勤 著



化学工业出版社

· 北京 ·

药物中杂质的控制是药物质量控制的重要环节。本书对药物杂质谱控制中相关的关键技术进行了论述,包括:复杂体系样本的分离分析、微量组分的结构分析和微量组分的毒性评价,在此基础上对杂质谱控制应用展开了阐述。

本书是国家重大新药创制项目的研究结晶,内容原创,包容大量的在实践中总结的案例、经验与图表,实用性强,适用于从事药物研究开发、药品生产、药品质量管理与监督的技术、研究人员。

图书在版编目(CIP)数据

药物杂质谱分析 / 胡昌勤著. —北京: 化学工业出版社, 2015.10
ISBN 978-7-122-24537-3

I. ①药… II. ①胡… III. ①药物-杂质-控制
IV. ①R9

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 151418 号

责任编辑: 杨燕玲 张 赛
责任校对: 边 涛

装帧设计: 史利平

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 北京画中画印刷有限公司
787mm×1092mm 1/16 印张 30³/₄ 字数 760 千字 2015 年 11 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 228.00 元

版权所有 违者必究

前言

FOREWORD

随着公众和媒体对药物安全性的日益关注,对药物中杂质的控制已经成为药品质量控制的重要环节。药品中诸杂质的种类与含量被总称为杂质谱 (impurity profiles)。依据药品中的每一个杂质的生理活性,逐一制定其质控限度是保证药品用药安全的关键,也是药物杂质谱控制的核心问题。

在我 30 余年的药品检定生涯中,开展杂质谱控制研究是近 10 余年来的主要工作。2010 年提出的实施杂质谱控制的基本策略,将与杂质谱控制相关的关键技术问题概括为:复杂体系样本的分离分析、微量组分的结构分析和微量组分的毒性评价 3 个方面。在国家重大新药创制项目的支持下,“十二五”期间国内杂质谱控制技术得以迅速发展,对上述关键技术也已经基本形成解决方案,并在应用中取得重大进展。本书就是对这些工作的系统总结。

在杂质谱研究历程中,有许多次的“突破”值得回顾。

在复杂体系样本的分离分析方面:2014 年,张夏博士通过回答“杂质已被认知还是未知?杂质是否被分析方法检出?”两个问题,将杂质分析结果分成四个象限考虑;首次提出了基于风险分析理念的 HPLC 分析体系“四象限”评价策略。

在微量组分的结构分析方面:2004 年胡敏硕士首次利用 LC-MS 探讨十六元环大环内酯类抗生素的质谱裂解规律,通过对结构已知组分的系统总结,得出此类化合物质谱裂解、色谱保留、紫外光谱行为等方面的规律,利用这些规律发现了样品中一些未见报道的小组分。2005 年,李玮硕士首次提出了二维色谱相关光谱法,利用化学计量学方法,对高效液相色谱仪-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 采集的色谱光谱信号进行处理,通过对不同分析方法中色谱峰 UV 光谱相似性的比较,实现了对不同色谱条件下的色谱峰的追踪和样品中的杂质色谱峰的识别。2012 年,李进博士针对 LC-MS 分析要求流动相中不能含有非挥发性盐的难题,首次搭建了柱切换 LC-MS (column-switching LC/MS) 分析系统,将需鉴别的杂质直接切入 MS 系统,经在线脱盐处理后即可进行 MS 分析;利用该技术成功地推测出《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)(2010 年版)头孢地尼色谱系统中的 13 个杂质峰结构。2014 年,钱建钦博士采用高分辨率质谱结合计算化学等多种手段,探索 β -内酰胺类抗生素及其同分异构体杂质的质谱裂解行为,总结了其质谱裂解规律。

在微量组分的毒性评价方面:从 2009 年起,与中国医学科学院医药生物技术研究张靖溥教授实验室全面合作,利用模式生物斑马鱼,建立药物微量杂质毒性评价平台,通过比较杂质与药物活性成分 (API) 的相对毒性,评估药物杂质的危害性。2010 年,利用斑马鱼胚胎毒性试验,探讨头孢菌素结构与其毒性的关系,提出了毒性功能基团 (toxic functional group) 的理念;2011 年,赵壮、佟军威硕士建立药物耳毒性评价模型;2013 年,韩莹博士建立药物斑马鱼心脏毒性评价模型;齐玉娟硕士建立斑马鱼急性肝损伤模型;2012 年和 2014 年,秦伟

博士和胡占英博士分别建立与完善了药物神经毒性评价模型；2014年，张帆博士利用 LC-MS 探讨了斑马鱼体内药物浓度与毒性反应的关系。

在杂质谱控制应用方面：2012年，胡秋馨硕士以色谱系统中最难分离物质对为指针，利用疏水-消除模型将色谱柱参数 (H, S, A, B, C) 与最难分离物质对的分离相关联，证明参数 A (hydrogen-bond acidity, 表征溶质与非离子化硅烷醇的氢键作用) 是影响 β -内酰胺抗生素杂质分离的最关键参数；《中国药典》(2015年版)中，部分 β -内酰胺抗生素品种已经给出了适宜的色谱柱参数 A 范围。2010年，张伟清硕士开展不稳定杂质对照品的数字化表征探索；2012年，张斗胜博士以加替沙星为例，建立数字化杂质对照品数据库替代杂质对照品实物，对药品中的杂质进行定性与定量分析。2004年，秦立硕士探索利用 GC 顶空分析筛查药物中残留溶剂的最佳方案；2007年，刘颖博士建立了药物残留溶剂分析定性、定量和色谱柱选择知识库；这些研究构成了《中国药典》2005年版至2015年版附录残留溶剂检查法的基础。

本书就是对上述工作的系统总结。书中的部分内容直接引自上述硕士或博士研究生的毕业论文及文章。此外，本书的内容还涉及朱建平硕士、张慧文硕士、李春风硕士、周刚硕士、王悦雯硕士、李萍硕士、王楠硕士、卢丽硕士、刘文硕士、陈珍珍硕士、杨利红博士、刘书好博士、王永红博士、王斌博士等的毕业论文工作；并与中国食品药品检定研究院王明娟副研究员、李娅萍副研究员、常艳副主任药师、崇小萌副主任药师、田冶副研究员、王琰药师等的研究工作有关。本书也是国家重大新药创制项目化学新药质量标准研究与评价技术平台课题的结晶。在课题的实施中，薛晶副研究员卓有成效地组织协调工作，使得课题得以顺利完成。本书还得到深圳市科技技术创新计划“基于注射用五水头孢唑林钠关键生产参数过程控制的技术研究”项目(20130411101600)的资助。

由于科学技术的飞速发展，加之时间仓促，水平有限，书中的错误和不妥之处在所难免，敬请专家和广大读者批评指正。相信伴随着时间的推进，将有更多、更新的工作充实丰富本书已经涉及和尚未涉及的内容，书中的许多概念将会得到丰富与发展。

胡昌勤
2015年4月

目录

CONTENTS

▶ 第1章 绪论：药物杂质控制进展	1
1.1 杂质研究相关法规和指导原则的变化	2
1.2 药物杂质控制进展	4
1.2.1 药典对药物杂质的控制	4
1.2.2 对仿制药杂质研究和控制的要求	7
1.3 杂质谱控制关键技术进展	9
1.3.1 复杂体系样本的分离分析	9
1.3.2 药物中微量工艺杂质的控制	12
1.3.3 杂质谱分析技术的应用	14
1.3.4 需要进一步关注的问题	15
参考文献	15
▶ 第2章 利用风险评估策略建立复杂样本杂质分析方法	20
2.1 基于风险评估的“四象限”策略	21
2.1.1 何为“四象限”策略？	21
2.1.2 “四象限”策略体系的构建	22
2.1.3 “四象限”策略的来源与应用	23
2.1.4 小结	24
2.2 对复杂样品杂质谱的认知	24
2.2.1 基于 QbD 理念的杂质认知策略	24
2.2.2 对大环内酯类抗生素杂质谱的认知	25
2.2.2.1 对交沙霉素杂质谱的认知	27
2.2.2.2 对丙酸交沙霉素杂质谱的认知	27
2.2.2.3 对醋酸麦迪霉素杂质谱的认知	27
2.2.3 对青霉素类抗生素杂质谱的认知	28
2.2.3.1 对青霉素杂质谱的认知	32
2.2.3.2 对异噻唑类青霉素杂质谱的认知	33

2.2.4	对替加环素杂质谱的认知	34
2.2.4.1	四环类抗生素的化学性质	35
2.2.4.2	合成过程可能引入的杂质	36
2.2.4.3	对替加环素杂质谱的认知	36
2.2.5	小结	37
2.3	采用实验设计理念建立 HPLC 分析方法	38
2.3.1	采用 DoE 理念优化 HPLC 方法的意义	38
2.3.2	采用 DoE 理念优化 HPLC 方法的步骤	38
2.3.3	交沙霉素 HPLC 分析方法的优化	40
2.3.3.1	已有方法的比较	40
2.3.3.2	影响因素考察	42
2.3.3.3	采用 CCD 优化色谱条件	46
2.3.3.4	梯度方法的建立	52
2.3.3.5	进一步优化	52
2.3.4	丙酸交沙霉素 HPLC 分析方法的优化	54
2.3.4.1	已有方法的比较	54
2.3.4.2	影响因素考察	55
2.3.4.3	采用 CCD 优化色谱条件	56
2.3.4.4	梯度方法的建立	60
2.3.5	醋酸麦迪霉素 HPLC 分析方法的优化	61
2.3.5.1	已有方法的比较	61
2.3.5.2	影响因素考察	61
2.3.5.3	采用 CCD 优化色谱条件	65
2.3.6	青霉素 HPLC 分析方法的优化	69
2.3.6.1	已有方法的比较	69
2.3.6.2	杂质峰的归属	70
2.3.6.3	影响因素考察	71
2.3.6.4	采用 CCD 优化色谱条件	72
2.3.6.5	梯度方法的建立	77
2.3.6.6	进一步优化	80
2.3.7	异噁唑类青霉素 HPLC 分析方法的优化	81
2.3.7.1	已有方法的比较	81
2.3.7.2	影响因素考察	83
2.3.7.3	采用 DoE 理念优化异噁唑类青霉素 HPLC 方法	83
2.3.8	替加环素 HPLC 分析方法的建立	99

2.3.8.1	相关 HPLC 方法的比较	99
2.3.8.2	影响因素考察	100
2.3.8.3	采用 CCD 优化色谱条件	102
2.3.8.4	梯度方法的建立	104
2.3.9	小结	107
2.4	对 HPLC 方法分析能力的评价	108
2.4.1	采用 LC-MS 方法鉴别第一象限和第二象限杂质	108
2.4.1.1	对十六元大环内酯类抗生素杂质的鉴别	108
2.4.1.2	对青霉素类抗生素杂质的鉴别	126
2.4.1.3	小结	128
2.4.2	利用定量结构 - 保留关系预测第四象限杂质的保留值	128
2.4.2.1	不同十六元大环内酯类抗生素色谱系统保留值的相关性	129
2.4.2.2	构建醋酸麦迪霉素杂质谱的 QSRR 模型	130
2.4.2.3	利用 QSRR 模型预测第四象限杂质的保留值	133
2.4.2.4	小结	134
2.5	对特定 HPLC 分析方法的互补分析	134
2.5.1	基于不同色谱柱系统的互补方法	135
2.5.1.1	利用反相色谱柱自身的互补性	135
2.5.1.2	利用不同机理色谱柱的互补性	136
2.5.2	基于不同检测器的互补方法	144
2.5.2.1	根据杂质的吸收特性选择检测波长	145
2.5.2.2	利用高灵敏度检测器验证 UV 检测器结果	145
2.5.3	基于不同分析原理的互补方法	147
2.5.3.1	利用 HPCE 验证 HPLC 色谱系统的有效性	147
2.5.3.2	利用 HPTLC 验证 HPLC 色谱系统的有效性	163
2.5.4	小结	175
	参考文献	175

► 第 3 章 杂质结构分析 179

3.1	杂质谱结构分析技术	179
3.1.1	柱切换技术	179
3.1.1.1	柱前富集模式	180
3.1.1.2	反冲模式	180
3.1.1.3	在 LC-MS 中的应用	180
3.1.2	色谱 - 光谱相关技术	184

3.1.2.1	基本原理	185
3.1.2.2	具体实验步骤	186
3.1.2.3	质控 HPLC 方法与 LC-MS 方法的相关分析	190
3.1.3	质谱谱图准确度校正技术	195
3.1.3.1	基本原理	197
3.1.3.2	利用同位素峰形校正检索技术确定头孢唑辛钠降解杂质	200
3.1.4	红外多光子解离 (IRMPD) 光谱技术	207
3.1.4.1	IRMPD 的仪器与原理	208
3.1.4.2	利于 IRMPD 技术探索化合物的质子化位点和电荷位点	209
3.2	对药物质谱裂解规律认知的一般方法	210
3.2.1	头孢克洛、4-3 头孢克洛、氯碳头孢等的质谱裂解行为	210
3.2.2	头孢菌素 3 位侧链结构对其质谱裂解行为的影响	216
3.2.3	氨基糖苷类抗生素质谱裂解规律	222
3.2.3.1	不同质谱仪中裂解行为的比较	222
3.2.3.2	不同电离方式对裂解行为的影响	224
3.2.3.3	脱氧链霉胺双取代衍生物质谱裂解途径	224
3.2.3.4	大观霉素质谱裂解途径	228
3.2.3.5	链霉素质谱裂解途径	228
3.3	利用 LC-MS 推断药物杂质结构	229
3.3.1	对头孢泊肟酯杂质结构的分析	229
3.3.1.1	头孢泊肟酯的质谱裂解行为	231
3.3.1.2	利用杂质对照品比对确定已知杂质结构	233
3.3.1.3	推测未知工艺杂质结构	235
3.3.1.4	推测未知降解杂质结构	237
3.3.1.5	小结	240
3.3.2	利用串联质谱法解析大环内酯类抗生素组分结构	240
3.3.2.1	十六元环大环内酯类抗生素解析思路	242
3.3.2.2	十四元环大环内酯类抗生素解析思路	254
3.3.3	小结	258
3.4	对同分异构体杂质的结构确证	259
3.4.1	立体异构体的 $^1\text{H-NMR}$ 谱差异	259
3.4.2	对呋布西林钠 S- 异构体的解析	260
3.4.3	对庆大霉素中小组分杂质的结构确证	264
3.4.3.1	LC-MS 分析庆大霉素小组分	265
3.4.3.2	NMR 分析确证庆大霉素小组分	267

3.4.3.3	庆大霉素组分的色谱行为与其结构关系	270
3.4.4	小结	271
3.5	互变异构体的结构确认	271
3.5.1	头孢唑兰互变异构体的确证	271
3.5.1.1	头孢唑兰互变异构现象	272
3.5.1.2	LC-MS 分析	273
3.5.1.3	液相旋光分析	274
3.5.1.4	LC-NMR 分析	275
3.5.1.5	NMR 碳谱分析	275
3.5.1.6	NOESY 谱分析	277
3.5.2	头孢曲松钠互变异构现象分析	277
3.5.2.1	头孢曲松钠的互变异构现象	277
3.5.2.2	头孢曲松钠互变异构体结构分析	277
3.5.2.3	头孢曲松钠互变异构特性	280
3.5.3	小结	281
	参考文献	282

第 4 章 药物杂质的毒性评价 285

4.1	斑马鱼毒性评价模型	286
4.1.1	胚胎毒性评价模型	286
4.1.1.1	建立斑马鱼胚胎毒性模型	286
4.1.1.2	胚胎毒性评价模型的应用	293
4.1.2	心脏毒性评价模型	300
4.1.2.1	建立斑马鱼胚胎和幼鱼评价模型	300
4.1.2.2	建立斑马鱼成鱼评价模型	303
4.1.2.3	特非那定对斑马鱼心脏相关基因表达水平的影响	306
4.1.3	肝脏毒性评价模型	308
4.1.3.1	建立斑马鱼肝毒性评价模型	308
4.1.3.2	硫代乙酰胺对肝脏病理标志基因和凋亡基因表达的影响	310
4.1.3.3	小结	312
4.1.4	耳毒性评价模型	312
4.1.4.1	建立斑马鱼药物耳毒性评价模型	312
4.1.4.2	斑马鱼药物耳毒性检测方法及应用	318
4.1.5	神经毒性评价模型	320
4.1.5.1	建立斑马鱼药物神经毒性评价模型	321

4.1.5.2	对盐酸氯胺酮杂质羟亚胺神经毒性的评价	325
4.2	结构与活性的相关性研究	329
4.2.1	头孢菌素的毒性功能基团分析	330
4.2.1.1	头孢唑林与头孢西酮的斑马鱼胚胎毒性比较	330
4.2.1.2	毒性功能基团分析	331
4.2.1.3	利用结构-毒性关系控制药品质量	334
4.2.2	药物空间结构对其毒性的影响	336
4.2.2.1	理论计算头孢菌素空间构象	336
4.2.2.2	头孢菌素空间构象对其毒性的影响	341
4.2.2.3	分子极性对其毒性的影响	348
4.2.2.4	小结	351
4.3	确定杂质限度的一般方法	351
4.3.1	依据化合物的毒性数据进行危险度评价	352
4.3.1.1	对 2- 萘酚的危险度评价	353
4.3.1.2	确定头孢氨苄、头孢拉定原料标准中 2- 萘酚的限度	355
4.3.2	依据毒理学关注阈值对化合物进行危险度评价	356
4.3.2.1	TTC 值与致癌毒性终点的关系	356
4.3.2.2	TTC 值与非致癌毒性终点关系	357
4.3.2.3	对暴露摄入量的估计与应用	358
	参考文献	359

► **第 5 章 药品杂质谱控制** **364**

5.1	建立稳健的杂质控制分析方法	365
5.1.1	色谱柱填料及表征技术	365
5.1.1.1	色谱柱填料	366
5.1.1.2	色谱柱表征技术	368
5.1.1.3	色谱柱表征技术的应用	373
5.1.1.4	色谱柱表征技术的发展	375
5.1.2	系统适用性试验	386
5.1.2.1	系统适用性参数的选择	386
5.1.2.2	复杂样品对传统色谱系统适用性试验方法的挑战	388
5.1.2.3	系统适用性试验新功能	392
5.1.3	梯度洗脱程序的设定	396
5.1.3.1	梯度洗脱程序表的合理设定	397
5.1.3.2	实验条件改变对梯度洗脱结果的影响	398

5.1.3.3	小结	400
5.2	杂质对照品的数字化表征技术及其应用	401
5.2.1	杂质对照品的数字化表征及应用	402
5.2.1.1	数字化杂质 HPLC 定性数据库	403
5.2.1.2	数字化杂质 HPLC 定量数据库	403
5.2.1.3	数字化杂质数据库的应用	405
5.2.1.4	小结	408
5.2.2	数字化对照品	408
5.2.2.1	红外光谱数据库	409
5.2.2.2	NMR 数据库	410
5.3	残留溶剂控制	414
5.3.1	残留溶剂分析的发展	415
5.3.1.1	残留溶剂控制标准的沿革	415
5.3.1.2	残留溶剂分析方法的发展	416
5.3.2	基于 RART 知识库的双通道并联色谱系统	417
5.3.2.1	双通道并联色谱系统的色谱条件	420
5.3.2.2	双通道并联色谱系统的分离效果	420
5.3.2.3	双通道并联色谱系统使用注意事项	422
5.3.3	残留溶剂定性确证知识库的建立	422
5.3.3.1	残留溶剂质谱确证知识库	423
5.3.3.2	残留溶剂气态红外光谱确证知识库	425
5.3.3.3	质谱库和红外光谱库的联合应用	429
5.3.4	残留溶剂定量筛查知识库的建立	432
5.3.4.1	建立有机溶剂浓度与峰面积的线性关系	433
5.3.4.2	残留溶剂定量筛查知识库的应用及注意事项	438
5.3.5	残留溶剂测定计算机辅助优化知识库的建立	439
5.3.5.1	基于溶剂化参数模型的预测知识库	440
5.3.5.2	有机溶剂保留时间的预测	445
5.3.5.3	基于溶质结构的计算机辅助色谱优化知识库的应用	448
5.3.6	影响药品残留溶剂测定的有关因素	450
5.3.6.1	共出峰干扰	450
5.3.6.2	热降解干扰	453
5.3.6.3	基质效应的影响	456
5.3.6.4	药品溶解性及溶剂介质的影响	458
5.3.7	按类建立残留溶剂测定方法	462

5.3.7.1	确定残留溶剂的种类	462
5.3.7.2	建立残留溶剂测定方法	462
5.3.7.3	方法验证	466
5.4	方法验证与转移	466
5.4.1	法规性文件与要求	467
5.4.1.1	ICH 对分析方法验证的基本要求	467
5.4.1.2	各国药典对分析方法验证的要求	468
5.4.1.3	方法转移	468
5.4.2	方法验证参数	468
5.4.2.1	专属性	469
5.4.2.2	线性与范围	469
5.4.2.3	检测限与定量限	470
5.4.2.4	精密度	471
5.4.2.5	准确度	472
5.4.2.6	耐用性	473
5.4.3	分析方法验证与测量不确定度	473
5.4.3.1	不确定度的评定和方法验证	474
5.4.3.2	方法准确度轮廓	474
5.4.4	方法转移	475
	参考文献	477

第1章

绪论：药物杂质控制进展

药品中的杂质通常被定义为“影响药物纯度的物质”，按其来源可分为工艺杂质（合成起始物、中间体、副产物等）和降解杂质两类。在药典中，杂质也被称为有关物质（related substances）。追溯人们对药品中杂质控制理念的变迁，可概括为三个主要阶段：纯度控制、限度控制和杂质谱控制。

早期的药物质量控制主要基于容量法、分光光度法等经典的化学分析方法，对杂质的控制主要是通过对药品的纯度控制间接实现的。《英国药典》（BP）是具有悠久历史且最有代表性的国际药典。C. A. Johnson^[1]撰文综述了1986年前二三十年间BP的一般质控策略及新分析方法（HPLC、GC）对BP的影响。虽然BP 1980已经提出了有关物质的概念，但此期间对药品质量的控制主要是对药品纯度的控制。

进入20世纪90年代，伴随着色谱分析技术的飞速发展，对化学药品中的杂质分析成为当时药品质控分析研究的主流。在药品质量控制理念方面，BP 1988已明确，“与已知杂质相比，对药品中的未知（潜在）杂质的控制更为重要；在良好的药品生产条件下，药品中不应当出现性质未知和量不可控的杂质”。从BP 1988起，历版的BP逐渐增加了对各类化学药品有关物质的检查；BP 1998是药物杂质控制的重要“分水岭”：该版药典在附录中首次增加了有关物质和残留溶剂检查通则，增加了杂质控制指导原则；同时在各论中对化学药品的已知杂质给出了具体的名称、分子式和结构式，并通过“已知杂质”、“任意单个杂质”和“总杂质”实现对化学药品中杂质的控制；标志着对药品中杂质的“限度控制”理念已经成熟。《中国药典》（ChP）2000年版和ChP 2005均遵循该“限度控制”理念控制化学药品中的杂质。

进入21世纪，伴随着人们对药品中的杂质特性，特别是生物学特性的深入了解，发现不同的杂质可能具有完全不同的生理活性，如 β -内酰胺抗生素中的微量聚合物杂质可能导致过敏反应，“致突变杂质”与其他杂质相比对人体的危害更大，因此药品的杂质“限度控制”理念存在明显缺陷。药品中的诸杂质的种类与含量被总称为杂质谱（impurity profiles）^[2]。理想的控制理念应是针对药品中的每一个杂质，依据其生理活性逐一制定其质控限度。1997年，S. Görög等^[3]撰文较详细地阐述了利用杂质谱控制药品中杂质的策略，并以甲哌地强龙（mazipredone）为例，提出了利用色谱（TLC、HPLC、GC）、光谱（UV、NMR）和联用技术（HPLC-PDA，GC-MS，HPLC-MS）组合分析药品杂质谱的方法。之后，药品“杂质谱控制”的理念逐渐形成，ChP 2010中的部分化学药品已开始尝试利用杂质谱控制的理念进行杂

质控制。2010 年, 根据国内杂质谱研究的现状, 我们提出了实施杂质谱控制的基本策略 (图 1-1), 并将其中的科学问题概括为: 复杂体系样本的分离分析、微量组分的结构分析和微量组分的毒性评价三方面问题^[4], 这也是本书将重点讨论的内容。ChP 2015 已经基本形成了较为完善的杂质谱控制体系。

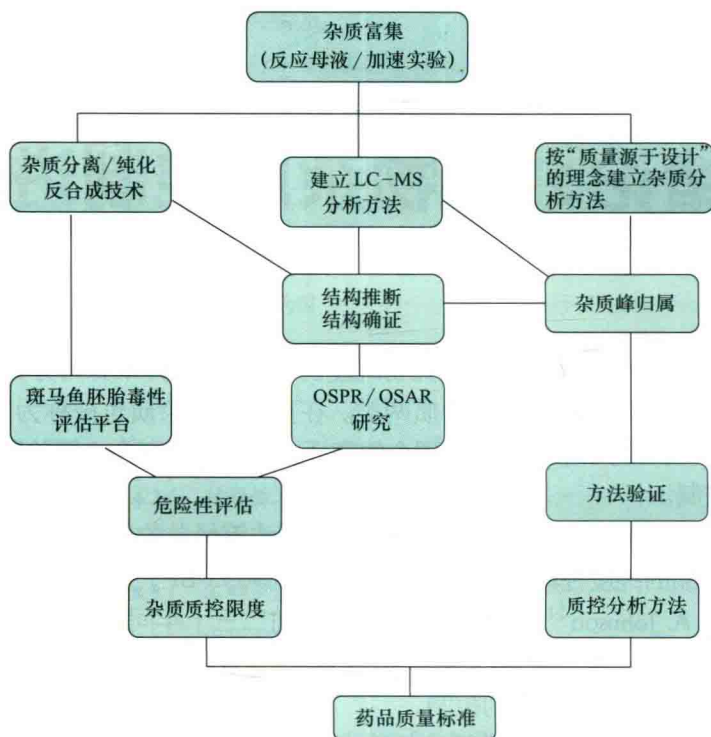


图 1-1 实施杂质谱控制的基本策略

1.1

杂质研究相关法规和指导原则的变化

人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) 分别制订的《原料药、制剂杂质研究指导原则》(ICH Q3A, ICH Q3B), 《残留溶剂研究指导原则》(ICH Q3C) 和《元素杂质研究指导原则》(ICH Q3D), 主要用于指导创新药申请 (NDAs) 中的杂质研究。ICH 有关杂质控制的基本理念目前不仅在创新药的研发中, 且在各国药典的修订中广泛被国际社会广泛接受, 其本身也被不断完善。美国食品药品监督管理局 (FDA) 将 ICH Q3A、ICH Q3B 的相关原则扩展到仿制药, 并针对仿制药的特点制订了仿制药 (原料药) 中杂质研究和仿制药 (药物制剂) 中杂质研究指导原则, 并分别于 2009 年和 2010 年正式发布^[5~6]。目前, 《英国药典》(BP)、《欧洲药典》(EP) 和《美国药典》(USP) 均在附录中设有专门的杂质检查通则; 《中国药典》(ChP) 从 ChP 2005 开始, 附录中开始设有《药物杂质研究指导原则》。

《原料药、制剂杂质研究指导原则》(ICH Q3A, ICH Q3B) 基于化学药物的日服用量制订杂质的报告限度、鉴定限度和质控限度; 当超出上述限度时, 该杂质即应该被报告、鉴定或控制。我国于 2005 年 3 月 18 日发布了《化学药物杂质研究的技术指导原则》(国食药监注

[2005] 106号), 该指导原则中对杂质研究的思路、原则、研究内容, 以及与 ICH Q3A、ICH Q3B 原料药和制剂的杂质研究限度(表 1-1, 表 1-2)等基本一致。

表 1-1 ICH 制订的化学原料药中有关物质的鉴定、报告和质控限度

最大日剂量	报告限度	鉴定限度	质控限度
≤ 2g	0.05%	0.10% 或 1.0mg (取最小值)	0.15% 或 1.0mg (取最小值)
>2g	0.03%	0.05%	0.05%

表 1-2 ICH 制订的化学药制剂杂质限度

报告限度	最大日剂量	≤ 1g		>1g	
	限度	0.1%		0.05%	
鉴定限度	最大日剂量	<1mg	1 ~ 10mg	>10mg ~ 2g	>2g
	限度	1.0% 或 5μg (取最小值)	0.5% 或 20μg (取最小值)	0.2% 或 2mg (取最小值)	0.10%
质控限度	最大日剂量	<10mg	10 ~ 100mg	>100mg ~ 2g	>2g
	限度	1.0% 或 50μg (取最小值)	0.5% 或 200μg (取最小值)	0.2% 或 3mg (取最小值)	0.15%

《残留溶剂的指导原则》(ICH Q3C) 中将药品生产和纯化过程中常用的 69 种有机溶剂按照其对人体和环境的危害程度分为 4 类: 第一类为人体致癌物、疑似的人体致癌物或对环境造成公害者, 应避免使用; 第二类为能导致动物非遗传毒性致癌或可能导致其他不可逆毒性反应的试剂, 应限制使用; 第三类为在药物中以一般量存在时对人体无害的低毒性溶剂; 第四类为没有足够毒性资料的溶剂; 并逐一制订了限度, 其基本理念已经被各国接受。

《元素杂质研究指导原则》(ICH Q3D) 是针对药品中无机杂质控制制订的指导原则。2013 年 7 月, ICH 专家工作组将 Q3D 的金属杂质 (metal impurities) 修订为元素杂质 (elemental impurities), 并提出了对元素杂质的分类和控制要求: 第一类元素杂质 As、Cd、Hg、Pb 是有显著毒性的金属杂质, 在所有给药途径的药物中均需考察。第二类元素杂质的毒性与给药途径有关, 分为两个亚类——2A 类: V、Mo、Se、Co, 由于这些元素具有较高的自然丰度, 所有给药途径的药物均需对其的潜在来源进行评估; 2B 类: Au、Tl、Pd、Pt、Ir、Os、Rh、Ag、Ru, 只有当这些元素杂质和原料生产过程可能相关时才需要对其的潜在来源进行评估。第三类元素杂质 Sb、Ba、Li、Cr、Cu、Sn、Ni 对口服给药途径药物的毒性相对较低, 仅需对其他给药途径的药物进行评估。第四类元素杂质 Al、B、Fe、Zn、K、Ca、Na、Mn、Mg、W 的毒性经评估认为较低, 但尚未对其的允许日暴露量 (PDE) 形成统一的标准。2014 年 12 月 16 日 ICH Q3D 的第四阶段讨论稿被正式签署, 其是一份定性 / 定量限制药品 / 药品制剂中元素杂质的全球性文件。

对遗传毒性杂质的控制是当前药物杂质控制的热点。欧洲药品管理局 (EMA) 2006 年发布了遗传毒性杂质限度指导原则, 对遗传毒性杂质进行了分类, 并介绍了确定遗传毒性杂质限度的原则和方法^[7]; 在 2007 年罗氏公司的甲磺酸奈非那韦片 (Viracept, 泛罗赛) 遭基因毒性杂质甲磺酸乙酯污染之后, EMA 要求生产过程中凡涉及甲磺酸、羧甲基磺酸、苯磺酸、对苯甲磺酸或相应酰氯工艺的已上市药品, 企业均需对产品中是否可能残留有相应的烷基酯进行全面验证^[8], 并针对基因毒性杂质的限度进行了答疑^[9], 以确保药品中的潜在基因

毒性杂质不超过毒理学关注阈值（TTC）（最大的日摄入量为 1.5μg/d）。美国食品药品监督管理局（FDA）2008 年发布了遗传毒性和致癌性杂质研究指导原则^[10]。ICH 也早已着手制订《遗传毒性杂质研究指导原则》（ICH M7），2014 年 7 月 15 日签发了第 4 阶段文件，要求在 ICH 区域内国家实施。

由于 ICH Q3A 和 ICH Q3B 均不适用于对由发酵工艺生产的抗生素的杂质控制，EMA 于 2010 年 5 月通过了抗生素有关物质标准制订指导原则^[11]，这是国际上首个针对抗生素杂质研究制订的指导原则。该指导原则明确指出：杂质谱在很大程度上取决于制造工艺，即使是相同的微生物菌株，其产生的杂质谱也不尽相同。对于抗生素药品，应参照 ICH Q3A 进行杂质谱研究，并按结构已知的特定杂质、结构未知的特定杂质、任何不明确的杂质（即非特定杂质，其可接受标准应不超过鉴定限度）和总杂质来制订有关物质限度。对于结构未知的特定杂质，应该充分证实其来源于母体化合物，并以适当的表示方法（如高效液相色谱法相对保留时间）进行识别和控制。抗生素原料药和制剂的鉴定、报告和质控限度如表 1-3 和表 1-4 所示。

表 1-3 抗生素原料药的杂质研究限度

	报告限度	鉴定限度	质控限度
半合成产品	0.05% 同 ICH Q3A	0.10% 或 1.0mg（取最小值） 同 ICH Q3A	0.15% 或 1.0mg（取最小值） 同 ICH Q3A
发酵产品，单一组分	0.10%	0.15%	0.15%
发酵产品，多组分	0.10%	0.15%	0.50%/0.15%

注：与母体化合物结构密切相关的有关物质控限度为 0.50%，其他有关物质的质控限度为 0.15%，二者同时适用。

表 1-4 抗生素制剂的杂质研究限度

	报告限度	鉴定限度	质控限度
半合成产品	0.1%	0.2%	0.2%
发酵产品，单一组分	0.15%	0.2%	0.2%
发酵产品，多组分	0.15%	0.2%	0.5%/0.2%

注：与母体化合物结构密切相关的有关物质控限度为 0.50%，其他有关物质的质控限度为 0.2%，二者同时适用。

1.2 药物杂质控制进展

在药品国家标准中按“杂质谱控制”的理念对药品中的杂质进行控制是杂质控制的最终目标。当杂质谱控制的关键技术已经基本具备时，如何在药品国家标准中实现杂质谱的控制将成为关键。

1.2.1 药典对药物杂质的控制

药典（pharmacopoeia）是一个国家记载药品质量规格、标准的法典。一般由国家组织编制，由政府颁布实施，具有法律的约束力。国际上影响较大的药典包括《美国药典》（USP）、