

合成肽类药物的质量控制

任丽萍, 范慧红* (中国食品药品检定研究院, 国家药品监督管理局化学药品质量研究与评价重点实验室, 北京 102629)

摘要 目的: 为合成肽类药物的研究和质量控制提供参考。方法: 从合成肽类药物的定义和分类入手, 分析梳理合成肽类药物相关指导原则及不同药典中与其相关的通用技术要求现状。结果与结论: 与传统药物相比, 合成肽类药物结构复杂, 质量属性分析方法的建立具有更大的难度和特殊性, 质量控制的要点在于药物活性成分的结构表征、肽相关杂质的控制与分析和质量控制用标准物质的研制。

关键词: 多肽; 化学合成肽; 质量控制; 肽相关杂质

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2023)08-0925-07

doi:10.16153/j.1002-7777.2023.08.010

The Review of Quality Control of Chemically Synthetic Peptides Drug

Ren Liping, Fan Huihong* (National Institutes for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Chemical Drugs, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To propose a reference for the research and quality control of chemically synthetic peptides drugs. **Methods:** Starting with the definition and classification of chemically synthetic peptides drugs, the current situation of guidance and general technical requirements of different pharmacopoeias was analyzed and sorted out. **Results and Conclusion:** Compared with traditional medicines, chemically synthetic peptides drugs have complex structures, and the establishment of analysis methods for quality attributes has greater difficulty and specificity. The key points of quality control lie in the structural characterization of the active pharmaceutical ingredients, the control and analysis of impurities of related peptides and development of standard substance for quality control.

Keywords: polypeptide; chemically synthetic peptides; quality control; impurities of related peptides

肽类药物是由两个或多个 α -氨基酸通过肽键连接而成。合成肽类药物是指由化学合成方法制备的肽类药物。开发安全性高、疗效好的合成肽类药物有赖于起始原料的质量控制、肽的固相合成策略以及分离纯化技术等多方面的共同发展。

对药物质量控制的广义理解包括药品起始原料供应商的质量控制、药品生产过程控制以及终产

品的质量控制等环节。合成肽类药物的生产过程包括合成肽起始物料的控制, 肽合成过程中的偶联和脱保护反应参数的确定, 合成工艺中裂解、修饰、纯化过程以及冻干成盐工艺的确定等。鉴于多篇文献都曾对合成肽类药物的制备工艺和过程控制进行过专门的阐述与说明, 本文将主要侧重于梳理合成肽类药物的定义与分类, 总结分析国内外合成肽类

基金项目: 合成肽类创新药聚合物杂质关键分析技术研究(编号 2023HYZX01)

作者简介: 任丽萍 Tel: (010) 53851412; E-mail: renliping@nifdc.org.cn

通信作者: 范慧红 Tel: (010) 53851585; E-mail: shenghuayaoshi@126.com

药物质量控制要求的最新进展,结合质量标准复核过程中的体会与思考,就合成肽类药物质量控制的要点进行分析探讨。

1 多肽的定义及分类

多肽在包括细胞增殖分化、免疫防御、肿瘤病变等在内的生命活动中起着至关重要的作用。从多肽药物的获取途径来讲,共有化学合成肽、从天然产物中提取的肽和基因重组技术多肽三种。因为在药物申报过程中,生物制品与化学药品遵循着不同的毒理学指南和质量研究指南,因此,产品的监管定义和分类对于肽类药物开发者至关重要。尽管随着固相合成技术的发展,化学合成的肽链的长度已能超过50个氨基酸,但对于如何从肽链的长短或是肽链的数量来划分肽与蛋白质,目前还缺乏统一的科学共识。

2020年2月,美国食品和药物管理局(FDA)发布联邦公报^[1],规定“蛋白”是 α -氨基酸的聚合物,这类聚合物具有特定的、明确定义的氨基酸序列,所包含的氨基酸的数目应超过40个。当有两条或两条以上的氨基酸链在聚合物中互相连接时,氨基酸聚合物的大小指的是所有链中氨基酸的数目,并非单指以连续的顺序所连接的氨基酸的数目,以上规定减少了监管部门将肽和蛋白质作为药品或是生物制品划分的不确定性。基于这一规定,美国药典(USP)1503通则^[2]明确了肽的定义:肽是由两个或更多的氨基酸通过共价连接的短链,可由重组技术、生物提取或化学合成制备。并规定小于等于40个氨基酸组成的聚合物为肽,同时说明除非还同时满足生物制品的定义(如为肽类疫苗),否则的话应当视为药品而不是生物制品。美国药典1503通则明确规定该通则中所描述的概念和质量要求只适用于化学合成的肽。

我国2007年发布的合成多肽药物药学研究指导原则针对的也是化学合成肽^[3]。在其前言中定义了合成多肽药物是指采用化学合成方法制备的多肽类药物,明确指导原则的适用范围是采用液相或固相合成方法制备的多肽药物,并不涵盖采用生物技术(重组技术或发酵工艺)或动植物提取的多肽药物。与美国药典通则有所不同的是,指导原则全文中未见对于氨基酸残基数目范围的规定。虽然在结构确证研究将合成肽分短肽、中肽和长肽进行分别叙述,但如何进行界定,指导原则并未给

出准确定义。

特别值得关注的是,2023年2月21日,国家药品监督管理局最新公布了《化学合成多肽药物药学研究技术指导原则(试行)》^[4]。在前言中明确了多肽是由多个氨基酸通过酰胺键相连形成的化合物,可通过基因重组表达、生物提取、化学合成等方法制备。这一版指导原则也未对肽链中氨基酸的数目和肽链的长短进行规定,在结构确证研究也不再将其分为短肽、中肽和长肽,而是从一级结构和高级结构分别进行讨论。

2 合成肽类药物相关指导原则及通用技术要求

由于分子大小介于小分子药物和大分子药物之间,合成肽类药物研发原则上应遵循一般的研究指南^[5-6]。近年来,随着进入临床开发和市场的肽类药物显著增多和合成肽类物质控理念的不断提升,更多国家和地区的药品监管部门,先后出台或更新了许多有关合成肽类药物研究的通用技术要求或指导原则。相关文献^[7-9]表明,在肽治疗领域工作的行业和监管科学家们正在对肽类治疗药物的研究进展、多肽药物开发 and 安全性评估所面临的复杂挑战以及肽类药物治疗前景等一系列相关问题进行着更深入的讨论和研究,本节内容并不涉及毒理学、遗传毒性或免疫原性评估等非临床安全性评价内容,主要侧重药学质量研究的相关指导原则和技术要求。

2.1 美国

FDA是第一个发布有关合成肽研究指南的监管机构,1994年发布了合成肽化学、制造和控制信息提交的行业指南^[10]。该指南提供了一系列在制造过程中控制纯度的方法,以确保终产品的质量。但该指南于2006年被FDA官方撤回。2013年,USP成立了一个治疗性肽专家小组,负责解决与肽质量标准相关的重要问题,召集合适的专家研究讨论药物质量标准的制定。

近年来,美国药典中与合成肽相关的技术要求更新最快,目前美国药典收录的合成肽类药物各论和与多肽药物相关的研究通则最多^[11]。与肽类药物研究相关的通则共有5个,分别为肽中的醋酸测定法(503)^[12]、肽中的三氟醋酸测定(503.1)^[13]、生物技术产品的氨基酸分析(1052)^[14]、生物技术产品的肽图分析(1055)^[15]和合成肽类药物的质量

属性(1503)。其中,通则1503草案最先于2019年发布于美国药典论坛征求意见,2021年8月生效。该通则根据FDA的监管要求,概述了起草的详细背景、合成肽研发所应具有最低质量属性,仅对化学合成肽原料药的质量属性进行说明,重点对原料药中肽相关杂质的来源和鉴定进行分析,为合成肽原料药的质量控制研究提供了参考,该通则也包含多肽原料合成所需起始原料的相关内容,但并未详细展开,主要涉及的是合成肽原料药的杂质分析与控制。

2022年1月,美国药典会的生物制品各论1-多肽和寡核苷酸专家委员会在美国药典论坛对新的1504通则(合成肽起始原料的质量属性)征求意见^[16]。该通则概述了合成肽生产中的起始原料所需的最低质量属性,旨在为合成肽类药物生产中使用的起始原料的质量控制提供指导。通则集中讨论了9-芴甲氧羰基保护基(Fmoc)保护的氨基酸衍生物的质量要求,适用于所有的多肽起始原料,并特别说明通则1504应与通则1503结合使用,多肽生产企业不能因为缺乏相关指南而疏于建立原料供应商的质量体系,应建立与生产工艺和风险管控相关的质量体系。对原料供应商合成路径的评估应着重关注:(1)建议原料供应商的生产质量体系的运行应能保证批次稳定和生产可追溯;(2)建议与供应商建立技术协议或质量协议,供应商在改变合成路线或工艺的时候应通知客户;(3)生产企业必须评估更换供应商或起始原料生产工艺的重大变化对药物质量属性的影响;(4)在接收合成肽起始原料时,应确认供应商是否具有足够的认证计划和策略,供应商对合成肽起始原料的质量要求应与合成肽原料药质量影响的评估一致。目前该通则尚在修订阶段,还未正式收载入美国药典。

2.2 中国

我国的多肽类药物开发起步较晚,专门针对合成肽类药物质量研究和开发的技术文件还比较少,目前尚处于研究探索阶段。

2007年,原国家食品药品监督管理局发布了《合成多肽药物药学研究技术指导原则》,该指导原则对国内合成肽药物的生产制备、结构确证、质量研究和质量标准的制定以及稳定性研究的开展提出了一般要求。在具体内容上,重点阐明了合成肽药学研究的特点,提出研究需关注的问题,分析总

结了该类药物药学研究所涉及的特殊问题,对多肽药物的研究和开发提供了针对性的指导。但该指导原则在内容上过于偏重于原则性的要求,对其中的一些更加深入的技术问题,如有关物质研究方法、起始原料的要求、非对映异构体杂质的控制和研究等并未进行更深入的探讨。药品审评中心的王鹏、康建磊等^[17-19]结合该指导原则起草的背景和合成肽类药物注册技术审评工作的具体实践,对以上一系列关键问题进行了解读,对已颁布的指导原则的顺利实施是有益的补充。

《化学合成多肽药物药学研究技术指导原则(试行)》对合成肽药物的药学研究提出了一般性技术要求。该指导原则主要包括前言、原料药制备工艺、结构确证、制剂处方工艺、质量研究与控制和稳定性研究六部分。2023版指导原则是在2007版指导原则的基础上,充分借鉴了FDA、EMA等相关指导原则,结合了国内外最新的技术要求和国内研发实际情况,对生产制备工艺、结构确证和质量研究等内容制定了相对统一的技术要求。

现行版《中华人民共和国药典》(以下简称中国药典)二部目前收载了胸腺五肽、胸腺法新和生长抑素等多个合成肽品种各论,收载的唯一专门针对合成多肽的通用技术要求是合成多肽中的醋酸测定法。该通则自2010年版始增加于二部附录,并在2010年版增补本中对部分内容进行了修订。中国药典2015年版首次将上版药典附录整合为通则,并与药用辅料单独成卷作为中国药典四部,该项通用技术要求在该版药典被列入四部通则限量检查法^[20]。虽然篇幅简短,但在药典通用技术中对合成肽的质量控制要求终于有了零的突破,对于企业进行方法开发和质量控制具有积极的指导作用。本课题组在试验过程中发现,该方法存在着以下不足:(1)采用通则中0.42%氢氧化钠溶液调节pH需要大约80~90 mL碱液,有待完善;(2)洗脱程序梯度变化对色谱柱损害较大,建议应进一步优化;(3)方法中对于系统适用性要求还比较简单,建议增加主峰面积的RSD等量化要求。国外药典对于该通用技术方法的更新较快,美国药典自39版起增订了多肽中的醋酸测定法2,增加了可以采用醋酸钠作为对照品的内容,克服了冰醋酸对照品由于易挥发不能准确称量的缺点,并补充了采用磷酸盐缓冲液体系进行洗脱的方法,给予方法开发者更多的选择和

参考^[21]。此外,国家药典委员会理化分析专业委员会委托本课题组牵头承担完成了“药品中氨基酸分析法的建立”课题,拟定了中国药典氨基酸分析指导原则。该指导原则在国家药典委员会官网经过两轮公示征求意见^[22],预计将会增订于中国药典2020年版增补本,这将有助于合成肽生产企业在质量研究时选择适宜的氨基酸分析方法。

综上所述,我国专门针对合成肽类药物的相关技术要求文件颁布的进程较缓慢。目前国家药品监督管理局药品审评中心的胡玉玺等结合国内药品审评的新形势和新要求,在相关文献^[23-25]中对我国合成多肽药物的制备工艺和过程控制、合成多肽药物的质控及杂质谱研究以及仿制药研发和一致性评价等进行了梳理与探讨。相信随着国内合成肽类药物产业的蓬勃发展和药品研发理念的更新,针对该类药物的开发指导性的文件将会不断趋于完善。

2.3 欧洲

欧洲药典除收载合成肽品种各论和相关通用技术要求外,在药用物质通则(通则2034, Substances for Pharmaceutical Use)^[26]中专门对合成肽类药物有关物质的控制限度进行了明确的规定:应分别将0.1%、0.5%和1.0%作为化学合成肽类药物有关物质的报告限、鉴定限和界定限。

2018年,欧洲药品质量和健康保障局(EDQM)发布更新了“合成肽和重组DNA蛋白质药物各论标准制定技术指南(第二版)”(Technical Guide for the Elaboration of Monographs on Synthetic Peptides and Recombinant DNA Proteins)^[27]。该技术指南的目的是向标准起草者、审核者和使用者提供合成肽和重组DNA蛋白原料各论标准的制定规范,制剂品种并不在本指南的讨论范围。该指南针对合成肽类药物质量标准的品种名称、定义、性状、鉴别、检查(包括相关肽、旋光度、吸光度、反离子、干燥失重或水分、细菌内毒素检查等)、含量测定、贮藏条件及标签等进行了一般概括性的说明,对我国合成肽类药物研发人员具有一定的参考意义。

3 合成肽类药物质量控制要点

与传统的化学小分子药物相比,合成肽类药物具有特殊的结构和质量属性。特定的质量属性对分析方法的开发提出了更高的要求与挑战,生产企业应根据相关技术指南和通用技术要求制定药品质

量标准,标准的研究与提高应持续贯穿于合成肽类药物研发、生产和上市后的所有过程。下面将从合成肽类药物的结构表征、肽相关杂质的控制与分析以及合成肽质量控制用标准物质的研制三个方面对该类药物的质量控制研究作简要的探讨。

3.1 合成肽类药物的结构表征

合成肽类药物的结构表征应覆盖药物研究的整个生命周期,是药物质量研究的重要组成部分。结构决定功能,正确的结构对于药物的药效甚至生物活性的发挥起到决定作用。结构研究一般包括HPLC鉴别、红外光谱鉴别、质谱法测定单同位素分子量、核磁共振法测定结构、氨基酸组成分析、串联质谱法测定氨基酸序列、化学或酶法进行肽图分析、光学纯度分析、末端序列分析和圆二色谱,以及核磁共振光谱法等进行高级结构分析等。国外药典部分合成肽品种使用核磁共振法对药物的结构进行表征,如欧洲药典项下有布舍瑞林、戈舍瑞林和戈那瑞林等合成肽在鉴别项采用核磁共振法对结构进行表征^[28-30],而美国药典的血管紧张素、去氨加压素和戈那瑞林^[31-33]在鉴别时更倾向于采用质谱法进行结构表征。合成肽类药物的常规质控中,一般推荐选择两种不同原理的方法进行鉴别,最常用的方法有化学鉴别(双缩脲反应)、肽图鉴别、HPLC鉴别、质谱法鉴定分子量等。肽图鉴别适用于由20个以上氨基酸组成的多肽药物,根据多肽分子的结构特点,采用肽链内切酶将多肽序列水解成多个小肽结构,进而定性分析供试品与对照品结构的一致性,专属性较好。基于双缩脲反应的化学鉴别方法由于专属性较差,因此建立鉴别方法时主要从后三种方法中选择。

多肽药物的一级结构的表征主要包括氨基酸组成分析和氨基酸序列分析。二者侧重点不同,前者主要说明多肽结构中氨基酸组成的正确性,后者主要侧重氨基酸连接顺序的正确性,在多肽药物的申报资料中不能互相取代。氨基酸组成分析(氨基酸比值)在很多合成肽类药物质量标准中较常见,但序列分析一般不包括在常规检验中。中国药典和欧洲药典收载的多肽药物品种各论中,氨基酸比值主要是作为检查项,在美国药典一般列入鉴别项。是否一定将氨基酸组成分析订入多肽药物质量标准也不是一概而论,需要针对每个品种质量标准项目整体的设置情况来具体分析。如中国药典收载的胸

腺法新、鲑降钙素等品种各论^[34-35]，鉴别项目为色谱鉴别或肽键的化学鉴别，所表征的产品结构信息较少，因此将氨基酸比值作为检查项来进一步地表征产品的结构特征。而美国药典收载的特立帕肽，采用HPLC法和肽图进行鉴别，两种方法原理不同且专属性均较强，未再设置氨基酸比值来表征产品的结构特征。

多肽药物化学结构的组成单元为氨基酸，除甘氨酸外，其他的蛋白质氨基酸均具有光学活性，氨基酸光学活性的叠加构成了多肽药物的旋光特性，旋光度在一定程度可以表征多肽药物的结构特征、化学纯度或含量，但随着肽链长度增加，多肽化学结构趋于复杂。除一级结构的氨基酸序列会产生光学活性的叠加外，高级结构（如 α 螺旋）也会对比旋度产生重要影响。如果多肽药物有比较稳定的立体结构，比旋度可以一定程度地表征产品的结构特征，若不具有非常稳定的高级结构，比旋度会随着松散的立体结构而发生不可控的波动变化，此时比旋度不具有产品结构表征意义。

3.2 肽相关杂质控制与分析

在药物杂质谱分析中，药品中的杂质按照其属性常被分为无机杂质、挥发性杂质（通常指残留溶剂）和有机杂质（有关物质）三类。应采用不同的分析技术对不同类型的杂质进行分析控制。药品中有机杂质需要按照QbD（Quality by Design）的理念进行研究。

肽相关杂质（有关物质）是指与合成肽目标分子结构有关的杂质，属于有机杂质的范畴，主要分为工艺杂质和降解杂质。工艺杂质主要的引入途径有起始原料中的杂质、肽链合成过程中的副反应等，通过对起始物料、合成和裂解工艺参数的控制来减少或避免工艺杂质的产生，并在后续纯化步骤实现大部分杂质的有效清除。降解杂质主要是指在稳定性储存期间受pH、水分、温度、光照、氧气等因素的影响发生降解作用而产生的杂质，部分降解杂质也可能来自工艺过程。降解杂质控制主要是通过降低工艺过程的降解、优化产品储存条件（如包材密封性、避光性以及水分、pH、充氮、存储温度）等因素来降低杂质的增加速度，确保产品在生产、储存以及运输期间安全。

美国药典1503通则归纳总结了所有肽相关杂质的类别、来源、相关性以及为了鉴定以上杂质所

推荐采用的分析技术。一般来讲，肽相关杂质的类型主要包括缺失肽、插入肽、替换肽、断裂肽、立体异构体、Asp/Asn有关的杂质、 β -丙氨酸插入、焦谷氨酸、聚合物、二硫键还原杂质以及氨基官能团乙酰化杂质、含芳香族或含硫侧链氧化杂质、一级氨基酸的烷基化和酰化引入的杂质等。肽相关杂质结构表征和定量分析的主要技术是串联质谱（LC/MS/MS）和与液相色谱高分辨率质谱联用（LC/hrMS）技术。本课题组在对鲑降钙素注射液降解杂质进行分析时，结合多肽裂解规律，通过串联质谱技术，推断出3个主要降解杂质降钙素C、三硫鲑降钙素和脱氢丙氨酸鲑降钙素二聚体的化学结构^[36]。液相色谱高分辨率质谱联用技术具有更高的选择性、灵敏度，在肽类药物及肽相关杂质的结构表征和定量分析中被广泛应用。Kui Zeng等^[37]以3种肽类药物为模型系统，建立了液相色谱-高分辨率质谱方法，以评估该方法在肽类物质控方面的适用性。

对于肽相关杂质，在分析方法开发阶段，应尽可能选择不同原理的分析方法进行全面的常规检验多采用高效液相色谱法，推荐采用正交色谱分离技术对合成肽中的不同类型的肽相关杂质进行分析：含有疏水残基的多肽主要是通过反相色谱梯度洗脱模式；对于亲水性的肽则倾向于采用亲水作用的色谱分离模式；合成肽的聚合物杂质，一般采用SEC（尺寸排阻色谱法）对多聚体进行分析和定量。反相色谱洗脱时，一般多从三氟醋酸乙腈-水、硫酸盐溶液-乙腈和磷酸缓冲盐溶液-乙腈等不同的系统进行筛选，由于离子对试剂三氟醋酸和非挥发性缓冲盐的使用，多数肽相关杂质的分析方法无法和质谱兼容。预计未来合成肽类药物质量标准将会有更方便的流动相添加剂，便于LC-MS对杂质的直接识别。

3.3 合成肽质量控制用标准物质的研制

标准物质和检测方法是药物质量控制的两个重要技术支撑点，性质稳定均一的标准物质是方法建立过程中必不可少的重要因素。合成肽质量控制用的标准物质以理化测定用标准物质为主，而含量测定用化学对照品在合成肽质量控制体系中具有举足轻重的作用。这是因为合成肽类药物的含量一般是以无水、无反离子（如醋酸或其他酸）计，以含量测定用对照品为外标来表示肽的含量，对照品的

准确赋值直接关系到药品的有效性。

目前主要采取以下四种方法对肽的含量测定用对照品进行赋值^[38-40]：质量平衡法、核磁共振定量法、肽杂质校正定量氨基酸法、肽杂质校正氮含量法测定肽含量。其中，质量平衡法是对照品赋值采用的最主要方法，该方法从100%中扣除水、反离子、其他非肽杂质（如无机杂质、残留溶剂）的含量，再乘以主成分的纯度。定量核磁共振光谱法需要选择合适的内标，内标的信号需要与肽的信号完全分离。一般来讲，进行对照品的首批研制标定时，除采用第一种方法外，通常还会在后三种方法中再选取一种对质量平衡法的结果进行验证确认。我院在对首批甘氨酸-L-酪氨酸国家对照品的标定研究^[41]中，分别采用核磁共振定量法和质量平衡法两种不同原理方法进行赋值，结果基本一致，最终选择质量平衡法的结果进行赋值。在选择后两种赋值方法时需要特别注意的是，因为定量氨基酸分析法和氮含量测定法都是通过绝对法来测定肽的含量，最终赋值时一定要用肽相关杂质分析来进行校正，即肽含量乘以主成分的纯度进行校正。本课题组在合成肽质量标准复核工作中发现，有企业提供的原料药和杂质对照品的研究报告未经校正将绝对法测定的肽含量作为最终含量，直接影响到含量测定结果的准确性。

在研制过程中本课题组还发现，除赋值方法外，对照品的制备方式是影响合成肽含量测定对照品结果准确性的另一个主要原因，这主要归因于肽的高引湿性。制备时如果采用粉末直接称量分装的方式，应充分验证分装环境湿度是否会导致对照品瓶间水分的不均一。一般建议采用溶液灌装分装后再冻干的方式来制备合成肽对照品，但需要对灌装前和整个灌装过程中溶液的均一性进行验证。合成肽对照品一般进行冷藏或冷冻保存，需要定期进行质量监测。

4 展望

近年来，随着医药工业对于合成肽类药物质量控制实践经验的不断积累、分析手段的持续进步，以及质量源于设计、风险评估等国际先进药品质量控制理念的逐步推广，进一步推动了相关指南和通用技术要求的颁布与修订，使合成肽类药物的质量有了进一步提升的空间。但实际工作中难点尚存，如随着聚乙二醇化（PEG化）等长效化技术手

段在合成肽类药物的应用，以及植入剂、微球注射剂、脂质体注射剂、纳米粒注射剂等合成肽新剂型的开发，合成肽类药物的质量控制研究还存在诸多挑战，生产企业应结合药物本身的关键质量属性，确定质量控制关键点，研究建立适合的分析方法、质控方案与质量标准，以保证产品安全有效、质量可控。

参考文献：

- [1] Food and Drug Administration. Definition of the Term "Biological Product" (Federal Register/Vol.85, No.35) [EB/OL]. [2020-02-12]. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2020-02-21/pdf/2020-03515.pdf>.
- [2] USP. General Chapter 1503 Quality Attributes of Synthetic Peptide Drug Substances[S]. 2021.
- [3] 国家食品药品监督管理局. 合成多肽药物药学研究技术指导原则[S]. 2007.
- [4] 国家药品监督管理局. 化学合成多肽药物药学研究技术指导原则（试行）[S]. 2023.
- [5] ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances[S]. 1999.
- [6] ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q3A(R2) Impurities in New Drug Substances[S]. 2006.
- [7] Doris Zane, Paul L Feldaman, Tomi Sawyer. Development and Regulatory Challenges for Peptide Therapeutics [J]. International Journal of Toxicology, 2021, 40 (2) : 108-124.
- [8] Mayur S Mitra, Steven DeMarco, Brad Holub, et al. Development of Peptide Therapeutics: A Nonclinical Safety Assessment Perspective[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2020, 117: 104766.
- [9] Jolene L Lau, Michael K Dunn. Therapeutics Peptides: Historical Perspectives, Current Development Trends, and Future Directions[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2018, 26(10): 2700-2707.
- [10] FDA. Guidance for Industry for the Submission of Chemistry, Manufacturing, and Controls Information for Synthetic Peptide Substances[S]. 1994.
- [11] 王克全, 徐寒梅. 多肽类药物的研究进展[J]. 药学进展, 2015, 39 (9) : 642-650.

- [12] USP. General Chapter 503 Acetic Acid in Peptides[S]. 2008.
- [13] USP. General Chapter 503-1 Trifluoroacetic acid(TFA) in Peptides[S]. 2014.
- [14] USP. General Chapter 1052 Biotechnology-Derived Articles---Amino Acid Analysis[S]. 2018.
- [15] USP. General Chapter 1055[S]. 2009.
- [16] Pharmacopeial Forum Online. General Chapter 1504 Quality Attributes of Starting Materials for the Chemical Synthesis of Therapeutic Peptides[S]. 2022.
- [17] 王鹏. 合成多肽结构确证和质量研究[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(24): 2302-2305.
- [18] 王鹏. 合成多肽药物的合成工艺中关键问题分析[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(2): 102-105.
- [19] 康建磊, 徐冰珠, 李建宇. 关于合成多肽药物中非对映异构体杂质的研究[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(5): 387-389.
- [20] 合成多肽中的醋酸测定法[S]//中华人民共和国药典: 四部, 2015: 121.
- [21] 中国药典分析检测技术指南[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 435-438.
- [22] 国家药典委员会. 关于氨基酸分析指导原则的公示(第二次)[EB/OL]. (2022-03-09) [2022-06-15]. <https://www.chp.org.cn/gjywjw/tongze/16923.jhtml>.
- [23] 胡玉玺, 蒋煜, 韩天娇. 制备工艺和过程控制对合成多肽药物有关物质的影响[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(8): 2143-2148.
- [24] 胡玉玺, 蒋煜, 韩天娇, 等. 合成多肽药物物质控及杂质谱研究[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(5): 502-508.
- [25] 胡玉玺, 韩天娇, 胡延臣. 多肽类仿制药研发和一致性评价的考虑[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(8): 875-880.
- [26] EP. General Guidance 2034 Substances for Pharmaceutical Use[S]. 2021.
- [27] EDQM. Technical Guide for the Elaboration of Monographs on Synthetic Peptides and Recombinant DNA Proteins[EB/OL]. (2018) [2022-06-15]. https://www.edqm.eu/en/d/67217?p_l_back_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DSynthetic%2BPeptides.
- [28] EP. General Monographs: Buserelin[S]. 2019.
- [29] EP. General Monographs: Goserelin[S]. 2019.
- [30] EP. General Monographs: Gonadorelin Acetate[S]. 2019.
- [31] USP. General Monographs: Vasopressin[S]. 2020.
- [32] USP. General Monographs: Desmopressin Acetate[S]. 2020.
- [33] USP. General Monographs: Gonadorelin Acetate [S]. 2020.
- [34] 胸腺法新[S]//中华人民共和国药典: 二部, 2020: 1387-1388.
- [35] 鲑降钙素[S]//中华人民共和国药典: 二部, 2020: 1784-1785.
- [36] 任雪, 田文静, 杨化新, 等. 液质联用分析鲑降钙素注射液中的降解杂质[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(2): 174-177.
- [37] Kui Zeng, Ilan Geerlof-Vidavisky, Ashley Gucinski, et al. Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry for Peptide Drug Quality Control[J]. The AAPS Journal, 2015, 17(3): 643-651.
- [38] Josephs RD, Martos G, Li M, et al. Establishment of Measurement Traceability for Peptide and Protein Quantification Through Rigorous Purity Assessment-A Review[J]. Metrologia, 2019, 56(4): 044006.
- [39] Josephs RD, Stoppacher N, Daireaux A, et al. State-of-the-art and Trends for the SI Traceable Value Assignment of the Purity of Peptides Using the Model Compound Angiotensin I[J]. Trends Anal Chem, 2018, 101: 108-119.
- [40] Li C, Bhavaraju S, Thibeault M-P, et al. Survey of Peptide Quantification Methods and Comparison of their Reproducibility: A Case Study Using Oxytocin[J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 166: 105-112.
- [41] 刘博, 任丽萍, 张佟, 等. 首批甘氨酸-L-酪氨酸国家对照品的标定研究[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(22): 1890-1894.

(收稿日期 2022年7月1日 编辑 王雅雯)