

化学药物中亚硝胺杂质的控制策略及审评考虑

张帆, 吕明, 佟飞, 刘福利* (国家药品监督管理局药品审评中心, 北京 100076)

摘要 目的: 为完善亚硝胺杂质的科学监管及制药企业建立亚硝胺杂质的控制策略提供参考。方法: 通过梳理中国、美国和欧盟关于亚硝胺杂质的监管及控制要求, 进一步探讨亚硝胺杂质的来源、质量控制及风险评估。结果与结论: 自2018年在沙坦类等药物中检出不可接受水平的亚硝胺杂质以来, 国内外监管机构相继开展了化学药物中亚硝胺杂质的调查并发布相关控制措施以降低风险。亚硝胺杂质属于ICH M7 (R1) 中提及的“关注队列”物质, 可以通过多种途径引入到化学药物或药物自身降解产生, 实现对亚硝胺杂质的有效控制, 对于保证药品的安全及质量可控至关重要。

关键词: 亚硝胺杂质; 沙坦类药物; 质量控制; 杂质限度; 风险评估

中图分类号: R97 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2023)12-1431-007

doi:10.16153/j.1002-7777.2023.12.013

Considerations and Requirements for Control of Nitrosamine Impurities in Chemical Drugs

Zhang Fan, Lv Ming, Tong Fei, Liu Fuli* (Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100076, China)

Abstract Objective: To provide the control strategies of nitrosamine impurities for regulatory agencies and pharmaceutical companies. **Methods:** By sorting out the regulatory and control requirements of China, the United States, and the European Union regarding nitrosamine impurities, further explore the sources, quality control and risk assessment of nitrosamine impurities. **Results and Conclusion:** In 2018, unacceptable levels of nitrosamine impurities were detected in sartan drugs. Domestic and foreign regulatory agencies have successively conducted investigation on nitrosamine impurities in chemical drugs and issued relevant control measures to reduce risks. Nitrosamine impurities were classified as the “cohort of concern” by ICH M7 (R1), which could be produced from a variety of pathways or drug degradation. The effective control of nitrosamine impurities was essential to ensure the safety and quality of drugs.

Keywords: nitrosamine impurities; sartan drugs; quality control; impurity limit; risk assessment

亚硝胺杂质是一类分子中含有N-亚硝基结构的化合物, 不同于药物中的大多数有机杂质, 亚硝胺杂质在极低暴露量的情形下具有高度致癌性, 国际人用药品注册技术协调会 (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) M7 (R1)

《评估和控制药物中DNA反应性 (致突变) 杂质以限制潜在致癌风险》指南明确亚硝胺杂质为“关注队列”物质^[1], 世界卫生组织公布的致癌物清单中N-亚硝基二甲胺 (NDMA)、N-亚硝基二乙胺 (NDEA) 均属于2A类致癌物质^[2]。2018年在缬沙坦类药物中检出了亚硝胺杂质NDMA, 经调查发现其

他沙坦类药品中也存在NDMA、NDEA等亚硝胺杂质,随后雷尼替丁、二甲双胍等非沙坦类药品中亦发现不可接受水平的亚硝胺杂质。

具有高致癌性的亚硝胺杂质引起了全球监管机构的共同关注,欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)于2018年7月启动缬沙坦药品中亚硝胺杂质的评估,同年9月启动对沙坦类药物(坎地沙坦、厄贝沙坦、氯沙坦、奥美沙坦和缬沙坦)亚硝胺杂质的调查,2019年对非沙坦类药物吡格列酮和雷尼替丁检出亚硝胺杂质进行评估,2020年6月EMA发布《人用药中的亚硝胺杂质评估报告》^[3]。2018年6月美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)收到缬沙坦药物中检出NDMA杂质的通知并启动调查,2019年9月雷尼替丁和尼扎替丁检出NDMA杂质,2020年4月FDA要求从美国市场上召回所有雷尼替丁药品,2020年5月召回NDMA超标的二甲双胍缓释制剂,2020年9月FDA发布《人用药物中亚硝胺杂质的控制》行业指南^[4],阐述了亚硝胺杂质的可能引入条件及控制要求等。2023年8月FDA发布关于《亚硝胺药物成分相关杂质的推荐可接受摄入量限度》指南,用于已批准上市的药品以及在审产品可能存在的亚硝胺药物成分相关杂质(Nitrosamine Drug Substance-related Impurities, NDSRIs)进行基于风险的评估^[5]。

国家药品监督管理局药品审评中心于2019年1月公开征求《关于在原料药工艺中生成亚硝胺类化合物的风险警示》意见的通知^[6],2020年5月发布《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》^[7],2023年3月发布的《化学药品创新药Ⅲ期临床试验前会议药学共性问题及相关技术要求(试行)》明确要求亚硝胺类杂质需按相关要求进行评估研究和控制^[8]。实现对亚硝胺杂质的有效控制,对于保证药品的安全及质量可控至关重要。本文将结合欧盟、美国和中国实施的亚硝胺杂质监管措施及相关法规要求,从亚硝胺杂质的来源、质量控制、风险评估等方面进行分析探讨,为完善亚硝胺杂质的科学监管及制药企业建立亚硝胺杂质的控制策略提供参考。

1 国内外亚硝胺杂质的监管

1.1 欧盟

EMA于2020年6月发布《人用药中的亚硝胺杂

质评估报告》,该指南对亚硝胺杂质的生成机理、杂质限度制定依据及风险评估等进行了详尽阐述,全文基于行业现状及专家意见开展了亚硝胺杂质的全面调研及科学评估,最终形成亚硝胺杂质的来源、杂质限度及风险评估策略要求^[3]。

指南指出生产商应对原料药的合成路线、起始物料、中间体、原材料(溶剂、试剂、催化剂等)和制剂的生产过程(包括原辅料、包装等)进行评估,以确认亚硝胺杂质产生的根本原因并降低风险。如果确认存在引入或产生亚硝胺风险,则应考虑改变生产工艺;若风险无法避免则应对原料药或制剂制定合理的控制策略。对于申报上市及指定需要评估的品种,申报资料需提交亚硝胺风险评估报告,如果具有潜在亚硝胺杂质出现的风险,则应对样品进行确认性检验。同时说明如对检出的亚硝胺杂质有足够深入的研究或其检出水平始终低于要求限值的10%,可不定入质量标准进行控制。

1.2 美国

FDA于2020年9月发布《人用药物中亚硝胺杂质的控制》行业指南,阐述了亚硝胺杂质的可能引入条件,并建议原料药和制剂生产商对已批准或上市销售的产品以及在审产品进行风险评估,采取适当措施减少或防止亚硝胺杂质产生^[4]。

该指南指出在酸性条件下,仲胺、叔胺或季胺类化合物和亚硝酸盐可能形成亚硝胺杂质。例如在仲胺存在的情况下使用亚硝酸淬灭残留的叠氮化物(合成四唑环或引入叠氮基团的常用试剂),则形成亚硝胺的风险会更高。其次,生产商应评估含有胺基的试剂是否有形成亚硝胺的潜在风险,例如在高温条件下反应较长时间时,N,N-二甲基甲酰胺可能降解为二甲胺,二甲胺可与亚硝酸反应形成NDMA;N-甲基吡咯烷酮、N,N-二甲基乙酰胺和N,N-二乙基乙酰胺亦有类似的降解途径。同时指出外购起始物料或原辅料也存在亚硝胺污染的风险,使用回收的溶剂、催化剂和试剂也可能导致亚硝胺形成。对于采用亚硝酸淬灭叠氮化物的反应,如果没有足够的清除或精制操作,亚硝胺杂质可能会被带入至后续步骤,增加亚硝胺杂质的存在风险。另外说明某些药物本身会降解产生亚硝胺类杂质,例如雷尼替丁药品中NDMA检出量会随着稳定性贮藏时间的推移升高至不可接受的水平。FDA建议生产商研究亚硝胺杂质形成的潜在原因,评估

其原料药和制剂中亚硝胺杂质污染的风险。

2021年2月FDA更新了指南,该指南重新制定了制药商完成亚硝胺杂质评估的时间表。2021年11月发布了《降低药品中亚硝胺药物成分相关杂质风险的缓解策略》^[9],拟向行业提供可能的控制策略,以降低药品的NDSRI风险。NDSRI是一类与原料药具有相似结构的亚硝胺杂质,在某些情况将NDSRI的形成归因于辅料中的亚硝酸盐杂质。FDA建议生产商制定合理的控制策略并与监管部门联系,可通过在处方中添加抗氧化剂抑制成品中NDSRI的形成,或采用辅料(如碳酸钠)将pH值调至中性或碱性以抑制NDSRI的形成等。

2023年8月FDA发布了《亚硝胺药物成分相关杂质的推荐可接受摄入量限度》指南,用于预测药品中可能存在NDSRI的致突变和致癌性,提供其可接受摄入量限度,并给出了完成实施时间表。指南指出NDSRI通常由含有仲胺或叔胺的原料药与亚硝化试剂(例如制剂辅料中残留的亚硝酸盐)发生亚硝化反应而形成,该杂质在药品生产过程或贮存期间均可产生。由于目前缺乏可以确定NDSRI限度的致癌和致突变性数据,指南提供了基于NDSRI结构特征来预测其致癌性的5种分类,并推荐相应的可接受摄入量限度(依次为26.5、100、400、1500、1500 ng·d⁻¹),此方法适用于亚硝基两侧均有碳原子的NDSRI,并且碳原子不直接与杂原子双键键合(例如亚硝酰胺、亚硝基脲等),不适用于亚硝基在芳环内的NDSRI(例如亚硝基咪唑)。FDA建议申请人应在指南发布后的3个月内进行风险评估,如果确认检出的NDSRI高于可接受摄入量限度应及时通知FDA^[5]。

1.3 中国

国家药品监督管理局药品审评中心2020年5月发布《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》,指南阐述了亚硝胺杂质的产生途径:(1)由生产工艺引入,在一定条件下,胺类化合物尤其是仲胺,与亚硝酸钠(NaNO₂)或其他亚硝化试剂反应产生亚硝胺类杂质。仲胺可能来源于物料本身,或由伯胺、叔胺及季铵引入;酰胺类溶剂(如N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮等)在适宜的条件下(如酸性、高温等)也可能产生仲胺。亚硝化试剂的可能来源包括亚硝酸盐、亚硝酸酯、亚硝酸、由亚硝酸盐制备的物质(例如叠氮化

钠等),及胺类化合物的氧化等。(2)由污染引入,原料药生产过程中使用了被亚硝胺类杂质污染的物料(起始物料、中间体、溶剂、试剂、催化剂等);被亚硝胺污染的回收物料;同一生产线交叉污染引入的亚硝胺类杂质。(3)降解产生,药物本身降解产生亚硝胺类杂质(例如雷尼替丁在高温下会产生亚硝胺类杂质)^[7]。

该指南明确药品上市许可持有人/药品生产企业应切实履行药品质量管理的主体责任,对药品的安全 and 质量进行全生命周期管理,尽可能从原料药工艺路线的选择、物料的选择与质控、工艺条件的优化等方面尽量避免亚硝胺类杂质的引入,若评估药品具有亚硝胺类杂质残留风险且相关工艺无法避免时,应尽可能将该步骤调整至工艺的早期,利用后续多步骤的操作降低亚硝胺类杂质残留风险,并建立合适的分析方法,确保亚硝胺类杂质水平控制在安全限度以下。

2 亚硝胺杂质的控制

2.1 风险评估

亚硝胺杂质的产生途径较多,为保证该类杂质的有效控制及去除,需要充分评估原料药和制剂成品中亚硝胺污染或形成的风险。

EMA《人用药物中的亚硝胺杂质评估报告》建议由生产商开展亚硝胺杂质的风险评估,原料药结合如下因素进行分析:在仲胺、叔胺或季铵盐,或与易降解为仲胺或叔胺的试剂、溶剂和催化剂存在的情形下,使用亚硝酸钠或其他亚硝化剂;使用受污染的原材料或回收的溶剂、试剂和催化剂;使用受亚硝胺污染的起始物料或中间体;在同一产线生产的交叉污染;起始物料、中间体和原料药的降解;泡罩包装材料污染。对于制剂应结合药品生产过程中的交叉污染、辅料的亚硝胺污染风险、贮藏条件和包装形式(泡罩包装外使用硝化纤维)及其它降解途径(亚硝胺杂质降解为更小的亚硝胺杂质)等方面进行评估。另外说明生物制品出现亚硝胺杂质的整体风险虽然较低,但对于含有化学合成结构的生物制品、使用了添加亚硝化试剂工艺的生物制品,或其内包材使用含硝化纤维的泡罩包装仍应考虑亚硝胺杂质的潜在风险^[3]。

FDA《人用药物中亚硝胺杂质的控制》明确生产商需要对任何存在潜在亚硝胺杂质风险的药品开展风险评估,提供了防止药品中出现不可接受水平

亚硝酸胺杂质所需采取措施的建议。对于原料药生产商应进行生产工艺的风险评估,识别是否有可能存在亚硝酸胺杂质。如果存在亚硝酸胺杂质风险,应采用经过验证的高灵敏方法对批次样品进行确认检测,如果检出任一种亚硝酸胺杂质,生产商应调查其根本原因并对生产工艺进行变更,以降低或防止亚硝酸胺杂质的产生。建议原料药生产商尽可能避免可能产生亚硝酸胺杂质的反应条件;如果不能避免,要通过研究证明对工艺的合理控制,以降低亚硝酸胺杂质风险;对于酰胺类溶剂应谨慎使用;采用其它试剂替代亚硝酸盐进行叠氮淬灭,或将使用叠氮盐反应生成的原料或中间体从母液中分离至有机相,再分离至水相使用亚硝酸进行淬灭。另建议生产商应对原料药的供应链进行审计,监控潜在风险的起始物料和中间体。同时应尽量避免在生产工艺中使用回收的溶剂、试剂和催化剂等。建议制剂生产商制定合理的控制策略,评估原料药及成品的稳定性样品是否检出潜在亚硝酸胺杂质。如果检出高于定量限(Limit of Quantitation, LOQ)的亚硝酸胺杂质,生产商应制订控制策略以确保亚硝酸胺水平保持低于可接受限度,并对每个批次进行放行检测。同时应向FDA提交用于防止或降低亚硝酸胺杂质产生的变更报告^[4]。

我国《化学药物中亚硝酸胺类杂质研究技术指导原则(试行)》规定对于申报上市的产品,申请人在研发中应进行亚硝酸胺类杂质的风险评估,对明确有亚硝酸胺类杂质潜在风险的品种应进行充分的研究,在申报资料的相应章节提交亚硝酸胺类杂质的研究资料及检测结果,同时应注意用于研究的样品的批次、批量必须具有代表性以及科学依据。对于已上市药品,药品上市许可持有人/药品生产企业也应主动对于亚硝酸胺类杂质存在的风险进行评估,若存在潜在的亚硝酸胺类杂质产生风险,可参照指导原则的要求进行研究,根据研究结果采取相应的措施,以防止或最小化患者亚硝酸胺类杂质的暴露^[7]。

2.2 分析方法

欧洲药典(European Pharmacopoeia, EP)于2020年12月发布了亚硝酸胺通则(N-Nitrosamines in Active Substances)^[10],该通则提供了3种定量分析方法用于7个亚硝酸胺杂质的测定:分别为方法A(液相色谱-质谱联用,LC-MS/MS),方法B(气相色谱-质谱法,GC-MS)和方法C(气相

色谱-质谱联用,GC-MS/MS),其中NDMA适用A/B/C方法、NDEA适用A/B/C方法、亚硝基二丁胺(NDBA)适用C方法、亚硝基-N-甲基-4-氨基丁酸(NMBA)适用A方法、亚硝基-二异丙胺(NDIPA)适用A/C方法、亚硝基乙基-异丙基胺(NEIPA)适用A/C方法、亚硝基-二丙基胺(NDPA)适用C方法。同时说明采用方法A,如果待测样品含有二甲基甲酰胺(DMF)则可能会干扰NDMA的检测。2021年2月缬沙坦、氯沙坦钾、坎地沙坦酯、厄贝沙坦和奥美沙坦酯的各论均增加生产商应开展亚硝酸胺杂质风险评估的规定,并要求实施控制策略进行亚硝酸胺杂质的检测和控制^[11-15]。

美国药典(US Pharmacopeia, USP)通则<1469> Nitrosamine Impurities^[16]于2021年12月正式实施,该通则为原料药和制剂中潜存的亚硝酸胺杂质的识别、评估提供了科学的方法,提供了4种分析方法用于7个亚硝酸胺杂质的检测,包括NDMA、NDEA、NDIPA、NEIPA、NDBA、N-亚硝基甲基苯胺(NMPA)和NMBA。通则指出为防止痕量级的亚硝酸胺杂质在样品处理过程中的损失,合适的样品制备方法是亚硝酸胺杂质分析的关键。第一种方法为高效液相色谱-高分辨率质谱法(HPLC-HRMS),推荐用于缬沙坦、厄贝沙坦和氯沙坦钾的NDMA、NDEA、NDIPA、NEIPA、NMBA和NDBA测定,其中样品采用甲醇稀释并涡旋直至完全分散或溶解;第二种方法为GC-MS法,推荐用于缬沙坦、厄贝沙坦、氯沙坦钾、奥美沙坦酯、坎地沙坦酯和替米沙坦的NDMA、NDEA、NDIPA和NEIPA测定,样品采用咪唑溶解后加入乙腈;第三种方法为HPLC-MS/MS法,推荐用于缬沙坦、氯沙坦钾、奥美沙坦酯、坎地沙坦酯和替米沙坦的NDMA、NDEA、NDIPA、NEIPA、NMBA和NDBA测定,样品采用1%甲酸水溶液溶解;第四种方法为GC-MS/MS法,推荐用于缬沙坦、氯沙坦钾和坎地沙坦酯的NDMA、NDEA、NDIPA、NEIPA和NDMA,样品采用二氯甲烷进行提取。另外通则明确定量分析方法的验证应包括线性范围、准确度、重复性、中间精密度和定量限等。

目前,《中华人民共和国药典》(Chinese Pharmacopeia, ChP)2020年版增加了《遗传毒性杂质控制指导原则》^[17],并且6个沙坦类品种(缬沙坦、替米沙坦、氯沙坦钾、厄贝沙坦、坎地沙坦

酯及阿利沙坦酯)原料药标准增订【生产要求】项^[18],规定应对生产工艺等进行评估以确定形成遗传毒性杂质NDMA、NDEA等的可能性,必要时,应采用适宜的分析方法对产品进行分析,以确认NDMA、NDEA等的含量符合我国药品监管部门相关指导原则或ICH M7指导原则要求。《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》规定亚硝胺类杂质的分析测试方法,可以参考权威机构发布的方法,亦可自行开发方法,均需注意分析方法灵敏度应与所论证的杂质限度相匹配,并采用杂质对照品进行完整的方法学验证,保证亚硝胺类杂质能够准确有效地检出。若采用自行开发方法,需证明该方法等效于或者更优于同品种官方公布的方法。

2.3 控制限度

由于亚硝胺杂质致癌机制尚不完全明确、同时缺乏可靠的人体致癌性数据,其致癌风险评估及可接受摄入量(Acceptable Intake, AI)的确定较为复杂。现各国监管机构均根据ICH M7(R1),使用TD₅₀值(Median Toxic Dose, 导致50%肿瘤发生率的给药剂量)线性外推来计算AI,设定可接受风险控制水平对应肿瘤发生风险为十万分之一,人体体重统一按50 kg计算, $AI=TD_{50}(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}) \times 50 \text{ kg}/50000$,亚硝胺杂质的限度=AI/每日最大用药量。EMA《人用药物中的亚硝胺杂质评估报告》指出如检出的亚硝胺杂质没有足够的按ICH M7(R1)建议的情况,可使用18 ng·d⁻¹作为毒理学关注阈值(Threshold of Toxicological Concern, TTC)用于杂质限度的制定^[3]。

EMA《人用药物中的亚硝胺杂质评估报告》明确NDMA和NMBA的可接受摄入量为96 ng·d⁻¹,NDEA、1-亚硝基-4-甲基哌嗪(MeNP)、NDBA、EIPNA和DIPNA的可接受摄入量均为26.5 ng·d⁻¹^[3]。2022年更新的《关于人用药物中的亚硝胺杂质的问答指南》^[19]中提出亚硝胺杂质NDPA的每日可接受摄入量不超过26.5 ng;同时明确对于检出多个亚硝胺杂质的限度计算提供了2种方法,第1种按照已知亚硝胺杂质的每日摄入总量进行计算(应低于已知活性最强的亚硝胺杂质可接受摄入量);第2种方法可以根据ICH M7(R1)指南确保所有检出的亚硝胺杂质风险水平总和不超过十万分之一终生风险。2023年7月该问答指南将MeNP限

度调整为400 ng/天,并且新增了亚硝胺杂质控制决策树,以及NDSRI杂质的可接受摄入量限度计算方法(与FDA相关方法基本一致),同时说明结合FDA指南对于NDMA、NDSRI等杂质建议采用加强细菌回复突变试验(Bacterial Mutagenicity Assay, Ames)的测试条件,如果试验产生阳性结果,则无需开展增强测试条件的Ames试验。

FDA《人用药物中亚硝胺杂质的控制》明确7个潜在的亚硝胺杂质NDMA、NDEA、NMBA、N-亚硝基异丙基乙胺(NIPEA)、NDIPA、NDBA、NMPA,其中5个(NDMA、NDEA、NMBA、NIPEA、NMPA)已在原料药或制剂中检出。FDA建议亚硝胺杂质NDMA、NDEA、NMBA、NMPA、NIPEA和NDIPA的可接受摄入量分别为96、26.5、96、26.5、26.5、26.5 ng·d⁻¹。指南明确上述亚硝胺杂质限值只适用于药品中的单一杂质,如含有多个亚硝胺杂质,需根据每日最大剂量(Maximum Daily Dose, MDD)进行计算,MDD低于880 mg·d⁻¹的药物,其亚硝胺杂质总量不超过26.5 ng·d⁻¹可被接受,对于MDD高于880 mg·d⁻¹的药物,亚硝胺杂质总量应控制为不超过26.5 ng·d⁻¹,若不符合该要求应与FDA进行联系。如果在药品中发现未公布AI限值的亚硝胺杂质,生产商应依据ICH M7(R1)以确定亚硝胺相关杂质的风险,并对拟定限值的可接受性与FDA沟通^[4]。

我国《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》显示NDMA目前可接受摄入量为96 ng·d⁻¹,另说明对于未能在权威机构数据库中查询到TD₅₀值时,可选用以下几种方法分别获得该亚硝胺类杂质的控制限度,并建议取其中最小值:

(1)可以参考国际权威机构,如WHO、国际化学品安全性方案(International Programme on Chemical Safety, IPCS)等公布的数据或建立的风险评估方法;(2)与已有TD₅₀值的亚硝胺类杂质结构相似,可以导用其TD₅₀值计算杂质限度。例如N-亚硝基二异丙胺(DIPNA)和N-亚硝基乙基异丙基胺(EIPNA),其AI值采用NDMA和NDEA的数据外推,拟定DIPNA、EIPNA的每日最大摄入量为26.5 ng·d⁻¹^[7]。

3 亚硝胺杂质控制的审评思考

国内外药品监管机构均已实施亚硝胺杂质控制的法规要求并且监管要求也在不断更新,申请

人需持续关注国内外药品监管部门对亚硝胺杂质的要求并开展相关研究。目前,相关品种的申报资料基本提交了对于亚硝胺杂质的研究报告,笔者在审评中发现部分制药企业的亚硝胺杂质分析仅将NDMA、NMBA作为目标物,未提供全面的亚硝胺杂质评估分析及控制策略,也未说明该杂质的分析方法建立依据等。

3.1 控制策略

亚硝胺杂质引入途径复杂,申请人需要深刻理解亚硝胺杂质风险评估的重要性,以建立全面的亚硝胺杂质控制策略。亚硝胺杂质的风险评估应结合原料药的合成工艺、起始物料、溶剂试剂,同时避免使用受污染的原材料或回收材料;对于制剂采用同一条生产线应防止交叉污染引入亚硝胺杂质,药品辅料和内包材污染也是产生亚硝胺杂质的可能途径(EMA发现采用含有硝化纤维的泡罩包装与含胺的印刷油墨可产生亚硝胺杂质,当泡罩热封时汽化冷凝转移至制剂表面)。另外评估过程需要关注是否产生与药物成分相关的亚硝胺杂质,以降低潜在风险。

亚硝胺杂质的产生与化合物的合成工艺路线密切相关,在原料药合成工艺开发期间,应结合生产工艺和溶剂试剂分析出现亚硝胺杂质的潜在可能,从源头阻断产生亚硝胺类杂质。对于同一化合物的合成路径各生产商并不完全相同,意味着亚硝胺杂质的潜在来源也有多种可能。例如缬沙坦原料药通常采用叠氮化钠作为合成四氮唑的关键物料,部分生产工艺采用二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基亚砜(DMSO)或在酸性条件下加入亚硝酸钠或次氯酸钠作为叠氮化钠的淬灭剂,由于DMF可能存在并降解产生二甲胺,叠氮化钠可能引入亚硝酸钠而存在产生亚硝胺杂质的风险。《人用药物中的亚硝胺杂质评估报告》指出极性非质子传递溶剂[例如DMF、二甲基乙酰胺(DMAC)和N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)]有形成亚硝胺杂质的风险,建议尽可能避免使用,如无法避免应实施减少亚硝胺杂质产生的控制策略^[3]。对于无法替换的试剂和溶剂,需要优化工艺并增加适宜的杂质清除步骤,制定合理的过程控制,保证生产过程可有效去除此类杂质。

基于亚硝胺杂质的高致癌风险,对于沙坦类、二甲双胍等药物应提供全面的风险评估报告,例如申报原料药应提供详尽的生产工艺描述,加强

相关物料和溶剂的质量控制及生产工艺的过程控制,并制定合理的控制策略。另外对于目前未检出亚硝胺杂质的药物可结合亚硝胺杂质的产生机理开展风险评估。

3.2 分析方法及控制限度

亚硝胺杂质在人体中的可接受限度较低,因此分析方法的高灵敏度是亚硝胺杂质准确定量的关键。《人用药物中亚硝胺杂质的控制》指南规定亚硝胺杂质的检测需要使用LOQ为十亿分之一(Part Per Billion, ppb)级别的方法,对于每日最大给药剂量高于1克的药品以及采用一种方法检测多个亚硝胺杂质时,均应建立LOQ更低的分析方法(原料药和制剂分析方法的 $LOQ \leq 0.03$ ppm)^[4]。

目前,USP及EP已收录的亚硝胺检测方法均采用液相/气相与质谱联用的方法,以提高检测方法的灵敏度。《中华人民共和国药典》暂未收录亚硝胺杂质的检测方法,结合《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》规定可以参考权威机构发布的方法,亦可自行开发方法。审评中发现部分申请人采用自拟方法用于亚硝胺杂质的检测,也通常使用此分析方法同时检测多个亚硝胺杂质,对于上述情形需要进一步说明拟定分析方法的优势并提供方法建立的依据及优化过程,并且确认方法学验证及定量限符合要求。此外,样品的制备方法也是影响亚硝胺痕量杂质分析的关键因素,样品的制备过程、选取适宜的溶解试剂或提取步骤等均需要开展合理的支持性研究,以避免供试品溶液的配制过程造成杂质提取不完全或产生新的亚硝胺杂质,干扰检测结果的准确性。

如药品中检出2个或以上亚硝胺杂质,其杂质限度总量的控制目前暂时可借鉴USP/EP关于多个亚硝胺杂质的规定,合理拟定控制限度,并就亚硝胺杂质限度的控制及时与国家药品审评中心进行沟通交流。

4 结语

目前,亚硝胺杂质产生的主要来源及机理已逐渐明晰,但随着研究探索的深入和新的亚硝胺杂质的发现,对亚硝胺杂质的监管和控制仍面临挑战。药品上市许可持有人/药品生产企业应切实履行药品质量管理的责任,对药品的安全和质量进行全生命周期管理,高度重视药品中亚硝胺杂质控制的重要性。无论关于在研产品还是获准上市品种,

申请人均需持续关注国内外药品监管部门对化学药物中亚硝胺类杂质的监管要求,及时对新发现的杂质进行风险评估,根据研究结果采取相应的措施,并制定合理的控制策略,以推进我国亚硝胺杂质的科学监管,保障药品质量可控,满足临床用药需求。

参考文献:

- [1] ICH. M7(R1) Assessment and Control of DNA Reactive (mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals of Limit Potential Carcinogenic Risk[EB/OL]. (2018-08-30) [2023-06-10]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/m7r1-assessment-and-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit-potential>.
- [2] National Toxicology Program. 15th Report on Carcinogens[EB/OL]. (2021-12-21) [2023-06-10]. <https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/assessments/cancer/roc/index.html#toc1>.
- [3] EMA. Nitrosamine Impurities in Human Medicinal Products[EB/OL]. (2020-06-25) [2023-06-10]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-assessment-report_en.pdf.
- [4] FDA. Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs[EB/OL]. (2021-02-24) [2023-06-10]. <https://www.fda.gov/media/141720/download>.
- [5] FDA. Recommended Acceptable Intake Limits for Nitrosamine Drug Substance-Related Impurities[EB/OL]. (2023-08-04) [2023-09-20]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/recommended-acceptable-intake-limits-nitrosamine-drug-substance-related-impurities>.
- [6] 国家药品监督管理局药品审评中心. 关于在原料药工艺中生成亚硝胺类化合物的风险警示[EB/OL]. (2019-01-14) [2023-06-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/50dceb0f366b5d7a61a811a299b7ab43>.
- [7] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2020-05-08) [2023-06-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/776b663787ec5a60ac744071c3714d5a>.
- [8] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品创新药Ⅲ期临床试验前会议药理学共性问题及相关技术要求(试行)[EB/OL]. (2023-03-24) [2023-06-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/28a6683aa4cf9401b806ccdf8b8a4afc>.
- [9] FDA. Updates on Possible Mitigation Strategies to Reduce the Risk of Nitrosamine Drug Substance-Related Impurities in Drug Products[EB/OL]. (2021-11-18) [2023-06-10]. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/updates-possible-mitigation-strategies-reduce-risk-nitrosamine-drug-substance-related-impurities>.
- [10] EP. 11.0. N-nitrosamines in Active Substances (2.5.42) [S]. 2023: 119-203.
- [11] EP. 11.0. Valsartan (2423) [S]. 2023: 4351-4352.
- [12] EP. 11.0. Candesartan Cilexetil (2573) [S]. 2023: 2190-2192.
- [13] EP. 11.0. Irinotecan Hydrochloride Trihydrate (2675) [S]. 2023: 3130-3131.
- [14] EP. 11.0. Losartan Potassium (2232) [S]. 2023: 3260-3262.
- [15] EP. 11.0. Olmesartan Medoxomil (2600) [S]. 2023: 3567-3568.
- [16] USP. Nitrosamine Impurities (1469) [S]. 2023.
- [17] 中华人民共和国药典. 四部[S]. 2020: 527-530.
- [18] 中华人民共和国药典. 二部[S]. 2020.
- [19] EMA. Questions and Answers for Marketing Authorisation Holders/Applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 Referral on Nitrosamine Impurities in Human Medicinal Products[EB/OL]. (2023-07-28) [2023-09-20]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-marketing-authorisation-holders/applicants-chmp-opinion-article-53-regulation-ec-no-726/2004-referral-nitrosamine-impurities-human-medicinal-products_en.pdf.

(收稿日期 2023年7月26日 编辑 李亚微)