

• 专 论 •

药物中杂质及有害物质控制限度的研究进展

胡向青, 郝 福, 李志刚, 姜 海, 李振江*

河北神威药业有限公司 河北省中药注射剂工程技术研究中心, 河北 三河 065201

摘 要: 随着药物研发技术和检测方法的快速发展, 各国均制定了杂质或有害物质残留控制的指导原则。遵循“建立研究目标→确立杂质检测方法→样品检测→综合评价→建立限度并进行控制”的研究思路, 根据杂质的不同来源、杂质的危害性、过程中去除的难易等因素来确定其在终产品中是否纳入质量标准。从以上几方面综述了近年来药物中杂质及有害物质控制限度的研究进展。

关键词: 杂质; 有害物质; 重金属; 残留溶剂; 基因毒性; 农药残留; 二氧化硫; 真菌毒素

中图分类号: R927 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)09-0953-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.09.001

Research progress on quality control of impurities or hazardous substances in drugs

HU Xiang-qing, HAO Fu, LI Zhi-gang, JIANG Hai, LI Zhen-jiang

Hebei Province Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine Injection, Hebei Shineway Pharmaceutical Co. Ltd, Sanhe 065201, China

Abstract: Along with the rapid development of the drug research technology and detection methods, many guidelines were introduced focusing on impurities or hazardous substances residual in drugs by various countries. According to the procedure “establish the study target → develop the impurities testing method → sample determination → overall evaluation → setting limit and control”, the impurities may be evaluated whether to control in final products within the different factors, such as impurity sources, impurity harmfulness, removal difficulty from the final product, etc. Research progress on quality control of impurities or hazardous substances in drugs are summarized in this paper from above aspects.

Key words: impurities; hazardous substances; heavy metal; residual solvents; genotoxicity; pesticide residues; sulfur dioxide; mycotoxin

新药研发必须遵守“安全、有效、质量可控”的基本原则。秉承“科学设计、规范生产、过程监控及制定合理的药品质量标准”等原则能够保证药物的质量可控。在药物质量研究过程中, 除了关注活性成分的指标外, 近年来对其杂质和有毒、有害物质的研究越来越重视^[1]。药物中的杂质简单地可以分为有关物质(有机杂质)、残留溶剂、金属杂质、晶型杂质、异构体杂质、基因毒性杂质及其他一些特定的物质。这些物质一般没有治疗作用, 有的还具有一定的毒性, 尤其是基因毒性杂质, 是影响药物安全性的主要因素。药品在临床使用中产生的不

良反应除了与药品本身的药理活性有关外, 有时与药品中存在的杂质也有很大关系。对于原料药的杂质, 一般来源于起始物料及反应容器、试剂、催化剂、反应溶剂、中间体、副产物等; 而制剂中的杂质主要来源于辅料、溶剂、降解产物、包装器皿中可提取或渗出的杂质等。中药常见的杂质包括农药残留、重金属残留、黄曲霉素类、二氧化硫、大孔树脂残留溶剂等。抗生素类的药物因来源复杂导致其杂质比较特殊。在国家食品药品监督管理局药品审评中心技术审评中, 质量模块较多的问题都聚焦在“杂质限度制定的依据或合理性”上, 而“限

收稿日期: 2014-06-06

基金项目: 国家科技重大专项资助项目(2014ZX09201022-004)

作者简介: 胡向青(1979—), 女, 山西忻州人, 工程师, 硕士, 研究方向为药物新制剂的研究与开发。Tel: (0316)5759866 E-mail: sun@shineway.com

*通信作者 李振江, 男, 河北省石家庄人, 享受国务院特殊津贴, 长期从事现代中药全面质量控制等产业技术的设计和开发。

度制定”往往又是方法开发与验证的前提,非常重要,本文综述了近年来药物中杂质及有害物质在设定控制限度方面的研究进展。

1 杂质限度/阈值的设定

1.1 指导原则

各国或组织就杂质的限度论证先后出台了多项指导原则,核心是要求药物中的杂质应该能够被很好地控制,并尽可能地将其去除,见表 1。杂质的研究也经历了纯度控制→杂质控制→杂质谱控制的阶段。

1.2 杂质限度

人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)定义杂质的界定或论证为“杂质的界定是获得和评估一些数值的过程,这些数值用于建立安全的阈值,单个的或某些已明确的杂质质量在这个阈值水平下是可以确保生物安全性的。申报者应对所选定的杂质限度提供包括安全性研究在内的理由”。医药行业内一般可以从以下方面进行杂质的界定或论证^[28-37]:

(1) 从临床研究或预试验研究的数据获得;

表 1 杂质研究的相关指导原则

Table 1 Related guidelines on impurity research

类别	指南名称	发布单位	发布时间
有关物质	化学药物杂质研究技术的指导原则 ^[2]	SFDA	2005 年
	Q3A(R2): <i>Impurities in New Drug Substances</i> ^[3]	ICH	2006 年
	Q3A(R2): <i>Impurities in New Drug Substances</i> ^[4]	ICH	2006 年
	<i>Guidance for Industry ANDAs: Impurities in Drug Products</i> ^[54]	FDA	2010 年
	药品杂质分析指导原则 ^[6]	中国药典委	2010 年
	<i>Guideline on Setting Specifications for Related Impurities in Antibiotics</i> ^[7]	EMA	2012 年
残留溶剂	化学药物残留溶剂研究技术指导原则 ^[8]	SFDA	2005 年
	<i>Residual Solvents in Drug Products Marketed in the United States</i> ^[9]	FDA	2009 年
	Q3C(R5): <i>Impurities: Guideline for Residual Solvents</i> ^[10]	ICH	2011 年
遗传毒性	<i>Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities</i> ^[11]	EMA	2006 年
杂质	<i>Question & Answers on the CHMP Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities</i> ^[12]	EMA	2010 年
	<i>Guidance for Industry, Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended Approaches</i> ^[13]	FDA	2008 年
	<i>Guideline on the Assessment of Genotoxicity of Herbal Substances/Preparations</i> ^[14]	EMA	2008 年
	M7: <i>Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk</i> ^[15]	ICH	2010 年
	S2(R1): <i>Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use</i> ^[16]	ICH	2012 年
	<i>Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalyst or Metal Reagents</i> ^[17]	EMA	2002 年
金属杂质	<i>Guideline of the Specification limit for residues of metal catalysts or metal reagents</i> ^[18]	EMA	2008 年
	重金属检查法 ^[19]	中国药典委	2010 年
	<231>Heavy Metal Analysis ^[20]	USP35-NF30	2012 年
	<232>Elemental impurities-limit ^[21]	USP35-NF30	2012 年
	<233>Elemental impurities- Procedures ^[22]	USP35-NF30	2012 年
	Q3D: <i>Guideline for Elemental Impurities</i> ^[23]	ICH	2013 年
质量标准	Q6A: <i>Specifications for New Drug Substances and Products</i> ^[24]	ICH	1999 年
制定	化学药物质量标准建立的规范化过程技术指导原则 ^[25]	SFDA	2005 年
	Q8: <i>Pharmaceutical Development</i> ^[26]	ICH	2009 年
	<i>Technical Guide for the Elaboration of Monographs</i> ^[27]	EDQM	2011 年

ICH: 人用药品注册技术要求国际协调会; FDA: 美国食品药品监督管理局; EMA: 欧洲药物管理局; EDQM: 欧洲药品质量管理局;

USP: 美国药典; SFDA: 国家食品药品监督管理局

ICH: international conference on harmonization; FAD: food and drugs administration; EMA: European Medicines Evaluation Agency; EDQM: European Directorate for Quality Medicines; USP: United States Pharmacopeia; SFDA: State Food and Drug Administration

(2) 从科学文献中获得数据;

(3) 该杂质也存在于已上市的产品中, 间接证明;

(4) 该杂质是活性成分的代谢物;

(5) 如果是仿制药, 可以从比对的数据中寻找依据, 如药典限度、原研产品的限度; 最好做到鉴定阈值以下, 超过鉴定阈值杂质, 在结构确认取得相应杂质对照品后, 应用外标法重新定量, 以判断是否超过界定阈值。分析杂质的化学结构, 看是否具有“警示结构或官能团”;

(6) 进行杂质的毒理学研究。

在进行杂质限度的设定中, 要充分考虑杂质毒理学研究的数据、药品的适应症、日剂量、治疗持续的周期等方面。对于新原料药和制剂的杂质控制

限度可依据 ICH^[3-4], 见表 2。

ICH 提供的杂质研究指南仅适用于化学合成的原料药及制剂, 不适用于生物制品、发酵或半合成产品、中药以及来源于动植物的粗制品; 不适用于从新药制剂的辅料或包装容器中渗出产生的杂质, 不包括外源性污染物、多晶型和对映体杂质。

抗生素活性物质由化学合成工艺、发酵工艺或先采用发酵工艺, 后采用一步或多步化学步骤(半合成物质)来生产, 与合成工艺比较, 发酵工艺更易于变异而不容易控制, 其杂质分布情况可能更复杂和不可预测。

对于发酵类或半合成类抗生素药物的杂质限度制定, EMEA 出台了相应的指导原则^[7], 见表 3。

表 2 新原料药和制剂的杂质控制限度

Table 2 Control limit of impurities in new drug substances and products

类别	报告阈值		鉴定阈值		质控阈值或界定阈值	
	最大日剂量	阈值	最大日剂量	阈值	最大日剂量	阈值
原料药	≤2 g	0.05%	≤2 g	0.10%或 1.0 mg, 取最小值	≤2 g	0.15%或 1.0 mg/d, 取最小值
	>2 g	0.03%	>2 g	0.05%	>2 g	0.05%
制剂	≤1 g	0.1%	<1 mg	1.0%或 5 μg, 取最小值	<10 mg	1.0%或 50 μg, 取最小值
	>1 g	0.05%	1~10 mg	0.5%或 20 μg, 取最小值	10~100 mg	0.5%或 200 μg, 取最小值
			10 mg~2 g	0.2%或 2 mg, 取最小值	100 mg~2 g	0.2%或 3 mg, 取最小值
			>2 g	0.1%	>2 g	0.15%

表 3 抗生素类药物的杂质控制限度

Table 3 Control limit of impurities in antibiotics

类别	来源	报告阈值	鉴定阈值	质控阈值
原料药	半合成活性物质	0.05%/0.03%*	0.10%/0.05%*	0.15%/0.05%*
	发酵类单一组分	0.10%	0.15%	0.15%
	发酵类多组分	0.10%	0.15%	0.50%**/0.20%
制剂	半合成活性物质	0.10%	0.20%	0.20%
	发酵类单一组分	0.15%	0.20%	0.20%
	发酵类多组分	0.15%	0.20%	0.50%*/0.20%

*-依据 ICH Q3A, 由产品日剂量确定; **-结构密切相关化合物确认限度为 0.50%, 其他有关物质的确认限度为 0.2%, 根据情况将二者结合使用

*-according to ICH Q3A, control limit is determined by daily dose of products; **-control limit of compounds with closely related structures is confirmed 0.50%, and other relevant material is 0.2% using a combination depending on the situation

1.3 常用的杂质限度计算公式或评估方法

常用的杂质限度计算公式见表 4。

日允许接触剂量 (PDE) 即某物质被人或动物接触后, 任何反应频率或严重性在生物学上无明显增加的最高剂量。残留溶剂限度计算的 PDE 公式中, 如果未观察到反应的剂量 (NOEL) 未知, 可

以用最低观察反应剂量 (LOEL) 代替, 即某种物质被人体或动物接触后, 任何反应频率或严重性在生物学上明显增加的最低剂量。NOEL 的确定, 一方面根据相应动物试验的资料确定, 另一方面可以参考网上的数据库^[39-42], 另有文献报道, NOEL 可根据下列公式 $NOEL = LD_{50} \times 70/2\ 000$ 计算^[43]。

表 4 杂质可接受限度的计算公式

Table 4 Formula of acceptable limit for impurities

适用领域	代码	计算公式	参数意义
残留溶剂 ^[9]	PDE	$PDE = (\text{NOEL} \times \text{体质量调整}) / (F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5)$	PDE: 每日可接受的药物中残留溶剂的最大摄入量 (mg/d); NOEL: 不能观察到反应的量, 单位为 mg/(kg·d); 体质量调整 (kg); F_1 : 种属之间差异的系数; F_2 : 个体间的变异; F_3 : 短期接触下的急性毒性的可变系数; F_4 : 是否产生严重毒性的系数; F_5 : 为可变系数
基因毒性	C	$C = 1\,000 \times \text{PDE} / \text{剂量}$	剂量 (g/d)
杂质 ^[10]	C	$C = \text{TTC} / \text{给药剂量}$ $\text{TTC} = \text{TD}_{50} \times 50 / 50\,000$	TTC: 毒理学担忧阈值 (μg/d); 给药剂量 (g/d); TD ₅₀ : 半数中毒剂量; 50: 代表 50 kg 的体重因素 (不是用 70 kg 的平均体重)
中药农药 残留量 ^[37]	$L_{\text{农药}}$	$L_{\text{农药}} = \text{ADI} \times W / (100 M)$	$L_{\text{农药}}$: 最大限量理论值 (mg/kg); ADI: 每日允许摄入量 (mg/kg); W : 人体平均体质量 (kg); M : 中药/饮片每日最大剂量 (kg); 100: 安全因子
化学药物: 重金属 ^[20]	—	每天剂量 $\text{PDE} \geq \text{金属杂质含量} \times$ 每天最大剂量	适用于单一成分
	—	每日 $\text{PDE} \geq [\sum (C_M \times W_M)] \times D_D$	适用于药物制剂 M : 制剂中的每个组分; C_M : 该组分中重金属浓度 (μg/g); W_M : 制剂中组分的重量 (g/单位); D_D : 每日给药最大单位 (单位/d);
中药: 重金属 ^[37]	$L_{\text{重金属}}$	$L_{\text{重金属}} = \text{ADI} \times W / (10 M)$	$L_{\text{重金属}}$: 最大限量理论值 (mg/kg); ADI: 每日允许摄入量 (mg/kg); W : 人体平均体质量 (kg); M : 中药/饮片每日最大剂量 (kg); 10: 安全因子

毒理学关注阈值 (TTC) 是一种新的风险评估工具, 有助于毒性的评估。TTC 定义了一个安全的阈值水平, 当人体暴露水平低于该阈值时, 化合物不会产生明显的致癌性或其他毒性反应。根据取得 TTC 值数据库的性质, TTC 原则不适用于评价重金属 (如砷、镉、铅和汞)、具有极端长半衰期和在生物累积过程中表现出很大的种属差异的化合物、蛋白质^[44]。对于参数 TD₅₀, 可以从试验、文献、网站^[45]等途径获得。如未有 TD₅₀ 报道, 且未有特别说明,

TTC 可以制定为 1.5 μg/d。

2 一些特定领域或典型物质的残留限度的研究

2.1 基因毒性杂质

一般性的及 ICH 杂质研究指南并不适用于具有遗传毒性或基因毒性的杂质。基因毒性的杂质应该在工艺路线中避免设计或产生, 如果不可避免, 应该将其降低到一定的限度。

EMA、FDA 等组织出台了相关的基因毒性杂质控制的技术指南。对于短期用药, EMA 指南中

的限度见表 5。FDA 接受 EMEA 上述指南, 提出了临床研究阶段药物的限度, 见表 6。

表 5 EMEA 对基因毒性杂质的控制限度

Table 5 Control limit of genotoxic impurities by EMEA

指标	控制限度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)
单剂量	120
≤ 1 个月	60
≤ 3 个月	20
≤ 6 个月	10
≤ 12 个月	5

表 6 FDA 对基因毒性杂质的控制限度

Table 6 Control limit of genotoxic impurities by FDA

指标	控制限度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)
< 14 d	120.0
14 d~1 个月	60.0
1~3 个月	20.0
3~6 个月	10.0
6~12 个月	5.0
> 12 个月	1.5

有些化合物, 摄入量即便低于其 TTC, 其遗传毒性也很强, 如黄曲霉素类、N-硝基化合物、偶氮化合物等, 需要进行杂质的毒理学研究。

中间体杂质有警示结构的, 应分情况对待:

(1) 如果原料也含有相同的结构 (一般的抗肿瘤药物), 如卡培他滨, 其中间体含有氨基甲酸酯的警示结构, 那么原料成品中的中间体杂质可以按照 ICH Q3A 控制即可;

(2) 如果原料不含有警示结构, 而中间体有, 则中间体在原料中的残留情况需要按照基因毒性杂质控制, 如某药物合成时与对甲苯磺酸成酯, 而经水解后脱掉对甲苯磺酸形成活性成分;

(3) 合成路线中用到了磺酸或磷酸结构的物质

如同时用到了低分子的醇, 也要考虑成酯的情况是否会产生基因毒性杂质。

美国药品研究和生产商协会 PhRMA 成立了一个工作小组来讨论遗传毒性杂质, 成果以意见书的形式发表在《监管毒理学和药理学》杂志中^[46], 文件引入了两个重要的创新理念, 一是遗传毒性杂质的五级分类系统, 二是临床试验材料的分期 TTC 概念。基于该分类系统, 该文件提出了一个杂质评估策略, 成为业内大多遗传毒性杂质相关风险评估的标准。分期 TTC 意味着可以根据剂量和临床试验的持续时间对其进行调整, 使得剂量增加时 TTC 降低, 持续时间较短时 TTC 提高。

综合各类指导原则, 对于基因毒性杂质的控制基本形成了以下思路:

(1) 分析其合成路线, 并利用遗传毒性数据或警示结构存在与否鉴定潜在的遗传毒性杂质。而 TTC 则是风险评估的最终决策依据。图 1~3 分别列出了芳香族化合物、烷烃和环烷烃类化合物、含杂原子化合物等常见的警示具有基因毒性的化学结构或官能团^[47-48]。图 4 中展示了评估和处理潜在遗传毒性杂质的推荐步骤。

(2) 确认临床试验中短期用药的每日允许摄入量。

(3) 论证药物基因毒性杂质残留限度以使用严谨或更合理的阈值。

(4) 将第一步中鉴定的杂质进行分类, 并分别为每类进行限度论证。

2.2 残留溶剂

在 ICH 及其他国家的指南中, 药物中的残留溶剂分为 3 类: 一类溶剂应避免使用; 二类溶剂应限制使用, 残留量符合 PDE; 三类溶剂如暴露量不超过 50 mg/d, 那么对人体基本无危害。

表 1 已列出了残留溶剂限度的计算公式, 实际应用中可以选择不同的计算公式合理地扩大或紧缩限度。如乙腈的允许日接触量为 4.1 mg/d, 假定日

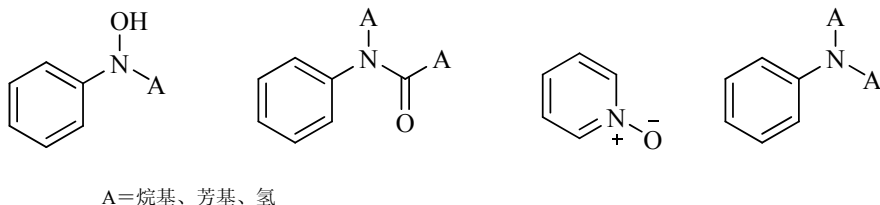


图 1 芳香族化合物的化学结构或官能团

Fig. 1 Chemical structures or functional groups of aromatic compounds

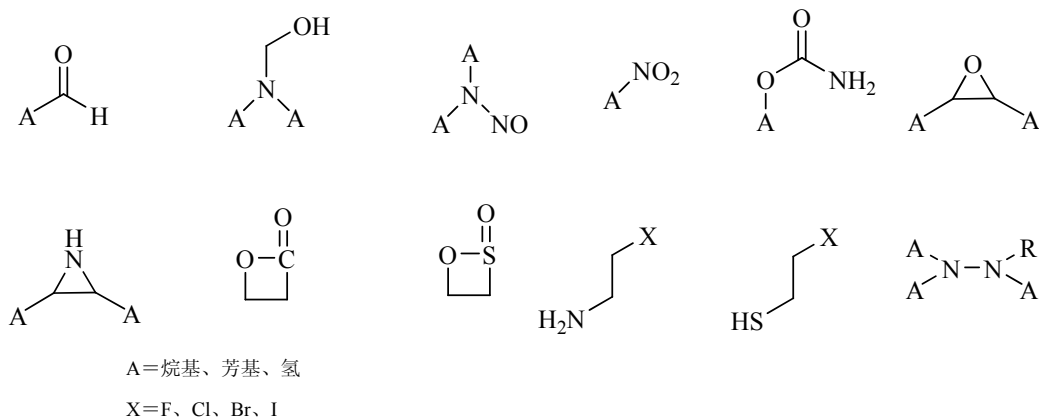


图 2 烷烃和环烷烃类化合物的化学结构或官能团

Fig. 2 Chemical structures or functional groups of alkanes and naphthenic compounds

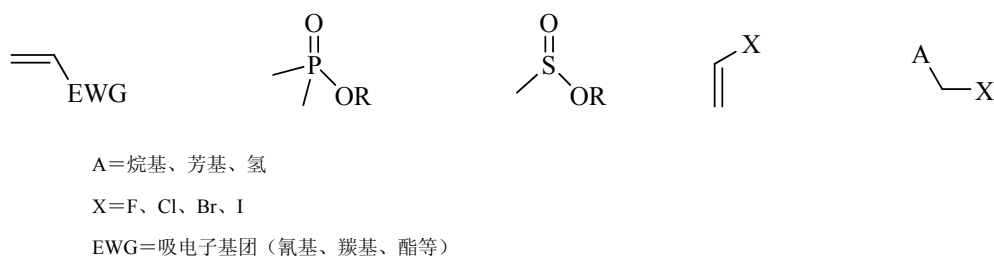


图 3 含杂原子化合物的化学结构或官能团

Fig. 3 Chemical structures or functional groups of compounds with heteratom

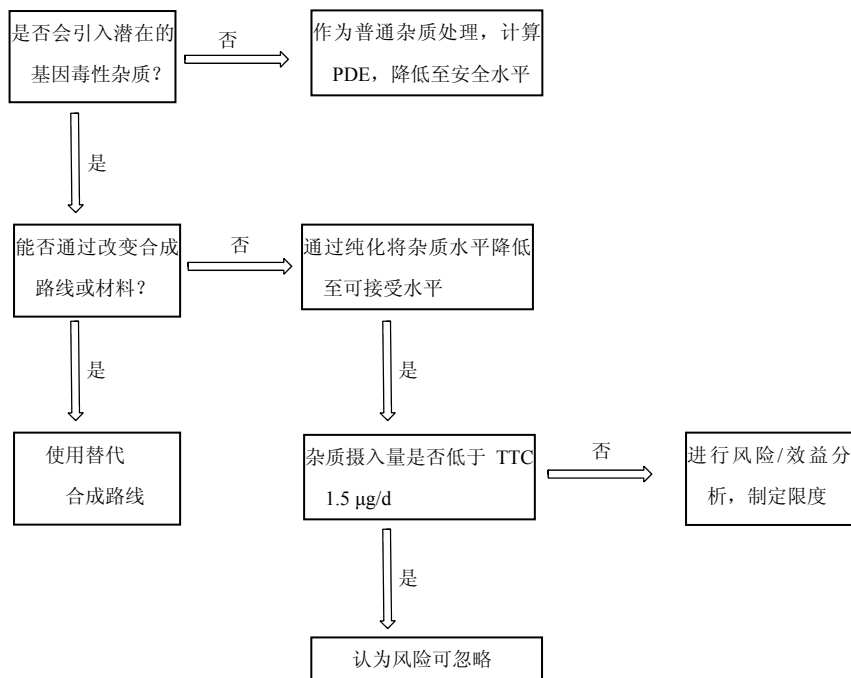


图 4 评估遗传毒性杂质可接受限度的决策树

Fig. 4 Decision tree of risk assessment on acceptable limit for genotoxic impurities

给药剂量为 10 g, 由此计算的限度是 4.10×10^{-4} 。现某片剂最大日剂量为 5.0 g, 含两种辅料。片剂的成分和计算得到的最大乙腈量见表 7。

表 7 残留溶剂限度的计算案例

Table 7 Example for calculating limit of residual solvents

成分	最大日剂量/g	乙腈量/($\times 10^{-6}$)	乙腈日摄入量/mg
原料药	0.3	800	0.24
辅料 1	0.9	400	0.36
辅料 2	3.8	800	3.04
片剂	5.0	728	3.64

辅料 1 中乙腈的量低于 4.10×10^{-4} , 但原料、辅料 2 和片剂的乙腈残留量均高于 4.10×10^{-4} , 但片剂的乙腈日摄入量低于规定的 4.1 mg, 因此, 符合指导原则的建议值。

对于一些未列入 ICH 类别的溶剂, 除了采用毒理数据计算外, 也可以借鉴一些经验数值:

(1) 三乙胺在原料药中的残留量可以控制在 3.20×10^{-4} [49];

(2) 对于 ICH 指出的二甲苯残留, 如未有特殊说明, 可以计算邻、间、对二甲苯残留之和;

(3) 石油醚是由低分子烷烃组成的混合物, 其组成比例没有确定性。在 ICH 指导原则和《中国药典》2010 年版附录中都将石油醚列为没有足够毒性资料的第四类溶剂, 要求药品生产企业在使用时应提供该类溶剂残留水平的合理性论证报告。文献报道, 以石油醚的各主要组分峰面积的加和计算方式来表示石油醚的残留量, 可以有效控制石油醚在药物中的残留量[50];

(4) 对于大孔树脂的溶剂残留量, 苯乙烯骨架型大孔吸附树脂残留物检查项目暂定为[51]: 苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、烷烃类、二乙基苯类(二乙基)等残留物的限度定为苯小于 2×10^{-6} 、其他小于 2×10^{-5} 。但是, 应用大孔树脂的药品安全性也同

其他药品一样, 在上市前应根据临床前和临床安全性研究的情况综合评价, 也可以参考 ICH, 同时考虑给药途径等因素;

(5) 对于残留溶剂色谱图中的未知峰, 可制订限度不得过 0.1%。

2.3 重金属

重金属杂质是一类自然存在的杂质, 可能是工艺需要有意使用了金属化合物或在生产现场接触到金属元素, 导致在终产品中残留。如基于安全性和质控的需要, 原料或辅料合成中用到的金属催化剂或金属试剂, 如钯、铂、锌、铁、铬等需要进行严格控制。

对于药物中常规性的重金属检查, 各国药典均制定了比色法进行半定量控制, 即在 pH 3.5 条件下, 通过硫离子或其他试剂与铅、铜、银、汞、镉等重金属离子反应生成黑色硫化物沉淀[19-20]。通过与含有已知量铅的对照溶液的比较进行样品的重金属检查。尽管本方法对不同重金属的灵敏度不同, 但总的“重金属”量是以铅量计。2011 年版《欧洲药典》指出了不同情况下的重金属残留限度[27], 见表 8。

但是, 经典的重金属限度检查法存在一定的局限性, 体现在以下几个方面: (1) 常规法基于目测比较, 误差较大; (2) 常规法是基于供试品中所有重金属元素之和, 无法单独定量特定元素的量; (3) 在一些地区和国家, 硫代乙酰胺因安全和环保原因被禁止使用, 以致常规法受限。在这种背景下, ICH Q3D、USP35<232>提出了金属杂质的指导原则。元素杂质包括可能会存在于原料药、辅料或制剂中的催化剂和环境污染物, 在检测方面, 处理传统的原子吸收分光光度法外, 一些新的检测手段应运而生, 如 ICP-OES、ICP-MS 可以同时定量测定多种金属元素的含量。这些方法各具特色, 比对情况及被《中国药典》2010 年版的收录评价[52]见表 9。

在质量标准设定上, 首先应根据药品生产中起始物料、原料、辅料或试剂中存在的, 或在生产过

表 8 以比色法计算的重金属限度

Table 8 Limit of heavy metal evaluating by colorimetry

日摄入量及暴露时间	重金属限度
每日摄入量 > 0.5 g, 治疗时间 < 30 d	需要进行重金属检测, 限度 2.0×10^{-5}
每日摄入量 > 0.5 g, 治疗时间 > 30 d	需要进行重金属检测, 限度 1.0×10^{-5}
每日摄入量 < 0.5 g, 治疗时间 > 30 d	需要进行重金属检测, 注射用原料的限度为 1.0×10^{-5} , 其他用途的原料药限度为 1.0×10^{-5}
每日摄入量 < 0.5 g, 治疗时间 < 30 d	不需要进行重金属检查

程中可能引入的元素种类及其允许日摄入量,来设定药品中需要被检测的元素。其次,应对含元素杂质的药物的不同给药途径区别对待^[21]。

USP232 对制剂中的元素杂质的控制限度见表 10。

制剂样品中每一元素的量应不超过日剂量允许日暴露量。构成制剂的原料和辅料中每个元素加和的结果应不超过日剂量允许最大暴露值。

在表 11 中提供了不同给药方式下日剂量不超过 10 g/d 的制剂生产所用药物成分(原料药和辅料)

中的浓度限。这些数值是默认浓度限值,帮助制剂生产商和其原辅料供应商对此进行讨论。化学药物金属杂质限度应用举例如下:

(1) 500 mg 片剂,每天服用一次,检测得片剂中砷为 0.75 $\mu\text{g/g}$,通过公式计算 $0.75 \mu\text{g/g} \times 0.5 \text{ g/d} \times 1 = 0.375 \mu\text{g/d} < 1.5 \mu\text{g/d}$ (口服制剂砷的 PDE),结果符合规定;

(2) 0.250 g 片剂,每天服用两次,1 片/次,配方组成及含铅量分别为 0.05 g API 含有 2.0 $\mu\text{g/g}$ 铅,0.1 g

表 9 各种元素分析方法的适用性

Table 9 Suitability of different elemental analysis methods

检测方法	主要应用	适用性	《中国药典》收载情况
比色法/比浊法	重金属总量/铁、硒	半定量、重金属限度	《中国药典》2010 各部已收录
原子吸收	砷、镉、铅、汞、铜(第一法)及多种元素	定量特定元素及部分多元素	《中国药典》2010 各部已收录
原子荧光	拟用于砷、汞等特定元素	定量特定元素	《中国药典》2015 各部拟增订,但有争议
ICP-OES	多种元素	定量多元素	《中国药典》2010 一部收录;拟在《中国药典》2015 二、三部新增
ICP-MS	砷、镉、铅、汞、铜(第二法)及多种元素	定量多元素	《中国药典》2010 一部收录;拟在《中国药典》2015 二、三部新增
HPLC-ICP-MS	元素价态、形态分析	定量多元素	《中国药典》2010 一部收录;拟在《中国药典》2015 二、三部新增

表 10 药物制剂中金属杂质控制限度

Table 10 Control limit of elemental impurities in drug products

元素	口服给药 PDE/ ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	注射给药 PED/ ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	吸入给药 PDE/ ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	大容量成分限度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
镉	25.0	2.5	1.5	0.25
铅	5.0	5.0	5.0	0.50
无机砷	1.5	1.5	1.5	0.15
无机汞	15.0	1.5	1.5	0.15
铍	100.0	10.0	1.5	1.00
钡	100.0	10.0	1.5	1.00
钨	100.0	10.0	1.5	1.00
铈	100.0	10.0	1.5	1.00
钒	100.0	10.0	1.5	1.00
铬	*	*	25.0	*
钼	100.0	10.0	250.0	1.0
镍	500.0	50.0	1.5	5.0
钕	100.0	10.0	1.5	5.0
铜	1 000.0	100.0	70.0	25.0

*-无安全性问题

*-no safe problem

表 11 原料药和辅料中的金属杂质控制限度

Table 11 Control limit of elemental impurities in drug substances and excipients

元素	口服给药的限度/ (μg·g ⁻¹)	注射给药的限度/ (μg·g ⁻¹)	吸入给药的限度/ (μg·g ⁻¹)
镉	2.50	0.25	0.15
铅	0.50	0.50	0.50
无机砷	0.15	0.15	0.15
无机汞	1.50	0.15	0.15
铍	10.00	1.00	0.15
钷	10.00	1.00	0.15
钡	10.00	1.00	0.15
铂	10.00	1.00	0.15
铈	10.00	1.00	0.15
钕	100.00	10.00	1.50
铬	*	*	2.50
钼	10.00	1.00	25.00
镍	50.00	5.00	0.15
钒	100.00	10.00	30.00
铜	100.00	10.00	7.00

*-无安全性问题

*-no safe problem

辅料 1 含有 1.0 $\mu\text{g/g}$ 铅, 0.1 g 辅料 2 含有 10.0 $\mu\text{g/g}$ 铅, 按公式计算, 每片含铅 = $(0.05 \text{ g} \times 2.0 \mu\text{g/g}) + (0.1 \text{ g} \times 1.0 \mu\text{g/g}) + (0.1 \text{ g} \times 10.0 \mu\text{g/g}) = 1.2 \mu\text{g Pb/片}$; $2 \text{ 片/d} = 2.4 \mu\text{g Pb/d}$ (口服每天限度为 5 $\mu\text{g Pb/d}$, 片剂符合要求)。

上述给定的安全性数据或限度会随着新的数据使用而更新。在药物的金属杂质分析中, ICH Q3D 把金属元素分为 4 类: I 类元素具有明显的毒性, 如砷、镉、汞、铅, 各种给药途径的药物均需考察。II 类元素杂质的毒性与制剂的给药途径有关, 又细分为 II A 和 II B 类。II A 类具有较高的自然丰度, 需要对所有潜在来源和给药途径进行评价, 这类元素包括钒、钼、硒、钴; II B 类如金、铈、钡、铂、银、铋、铊等, 当这些元素刻意添加或使用到原料生产过程中时才需要评价其潜在来源; III 类元素如铈、钡、锂、铬、铜、锡、镍等, 对于口服给药的制剂, 除非该元素作为原料的一部分而刻意加入, 否则无需进行安全性评级。对于注射剂和吸入制剂, 任何可能引入该类元素的可能性均需进行风险评估。IV 类元素如铝、硼、铁、锌、钾、钠、钙、镁等, 由于其低毒性或尚未建立 PDE 标准, 一般无需风险评估。该指南建议采用“鉴别(识别)→分析→评估→控制”4 步法的思路。鉴别已知的元素杂质,

找出其引入药品的潜在源头；分析确定特定元素在药物中存在的可能性；以 PDE 标准比较实测值与预测值的差距；最后建立并实施控制手段限度药品中的杂质。

需要特别说明的, 砷和汞作为两种特殊的元素均含有两种杂质形态: 有机型和复合无机型, 导致毒性差异较大, 无机砷大多有毒; 汞限度是基于无机二价氧化态, 甲基汞形式毒性最强; 因此, 作为中药使用的朱砂和雄黄, 要注意元素形态的分析。

本文也汇总了一些特定情形的金属残留限度:

(1) 中药注射液^[53], 按各品种最大日剂量计算, 含铅、镉、砷、汞、铜分别不得超过 12、3、6、2、150 μg 。

(2) 药用植物及制剂进出口绿色行业标准^[54]规定: 重金属总量不得超过 20.0 mg/kg, 铅、镉、汞、铜、砷分别不得超过 5.0、0.3、0.2、20.0、2.0 mg/kg。

(3) 对于与药品直接接触的包装材料和容器根据需也要控制金属元素, 如低密度聚乙烯输液瓶的质量标准(YBB00012002)中, 为了控制聚乙烯聚合中催化剂及生产管道等设备中混入金属元素, 对有毒有害的金属进行针对性检测: 在“金属元素”一项要求含铜、镉、铬、铅、锡、钡均不得超过 3×10^{-6} ; 在“溶出物试验”中, 要求钡、铜、铅、镉

不得过 1×10^{-6} ，镉、锡不得过 1×10^{-7} ，铝不得过 5×10^{-8} 。

2.4 5-羟甲基糠醛

5-羟甲基糠醛（5-HMF）为葡萄糖等单糖化合物在高温或弱酸等条件下脱水而成，葡萄糖注射液其 USP 标准和中国药典标准分别控制不超过 0.09%、0.02%。果糖注射液，英国药典标准和中国药典标准分别控制不超过 0.19%、0.12%，可见我国标准更为严谨^[55]。

2.5 二氧化硫

中药材经硫磺熏蒸能杀灭药材中的成虫及虫卵，抑制霉菌生长，使药材及其饮片外形上美观，容易上市销售。但因硫磺燃烧产生的二氧化硫与药材中的水分和无机盐结合，形成亚硫酸盐，被人体服用后与人体蛋白中的巯基进行结合反应，刺激消化道黏膜，出现恶心、呕吐、腹泻等中毒症状，长期服用，还可在人体内转化成强致癌物亚硝胺。

《中国药典》2010 年版在附录中增加了二氧化硫残留量测定法，但对具体中药饮片品种的残留限度未作出相应规定。国家食品药品监督管理局组织制订了中药材及其饮片二氧化硫残留的限量标准，并由国家药典委员会自 2011 年 6 月 10 日起面向社会公开征求意见。规定山药、牛膝、粉葛、甘遂、天麻、天冬、天花粉、白及、白芍、白术、党参 11 种传统习用硫磺熏蒸的中药材及其饮片，二氧化硫残留量不得超过 400 mg/kg；其他中药材及其饮片的二氧化硫残留量不得超过 150 mg/kg。FAO/WHO 制定的食品添加剂通用标准（第 33 届 CAC 大会 2010 年更新）规定：草药及香料中亚硫酸盐残留量“以二氧化硫计不得超过 150 mg/kg；韩国食品医药品安全厅第 2008-3 号公告中要求，进入韩国市场销售的金银花、当归等总计 266 中药品种采用 Monier-Williams 改良法检测，限量标准要求低于 30 mg/kg。而目前中国药典委员会推荐的 11 种药材的二氧化硫残留限度 400 mg/kg 及其他品种二氧化硫残留限度 150 mg/kg，限度范围相对较大^[56]。

在二氧化硫残留量计算的问题上，有学者研究了扣除水分按干燥品计算的方法，多批药材的平均水分为 11.3%，扣除水分后，二氧化硫的量平均增高 11.3%，该结果更加合理客观^[57]。

因此，如何科学合理地规定二氧化硫限度还需进一步研究。

2.6 农药

《中国药典》2010 年版规定了甘草、黄芪、人参茎叶总皂苷、人参总皂苷中有机氯类农药的残留限度；《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》规定六六六不得超过 0.1 mg/kg，DDT 不得超过 0.1 mg/kg，五氯硝基苯不得超过 0.1 mg/kg，艾氏剂不得超过 0.02 mg/kg^[58]。与《欧洲药典》、《美国药典》相比，《中国药典》收载的农药检查项的品种相对较少，因此，业内专家强调，中国市场上的上百种农药产品，药典规定的农药检测品种太少，标准也相当陈旧，国家明令禁止使用的农药应该被药典收录。

在制定农药最大允许残留量（MRL）时，需要兼顾产品特点和分析方法灵敏度的要求。MRL 是由国际食品法典委员会或各国政府设定的允许某一农药在某农产品、食品或饲料中的最高法定允许浓度。制订程序如下：首先，根据农药的毒理学数据，评估其毒性并设定每日允许摄入量；然后，确定优良农业措施，研究农药在植物体内的残留和代谢，以及根据残留试验结果进行 MRL 值的推荐；最后，进行风险评估，作出同意、不同意或修改推荐 MRL 值的决定^[59]。

2.7 中药中的真菌毒素

真菌毒素是由真菌产生的具有毒性的二级代谢产物，主要包括黄曲霉毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、展青霉素、赭曲霉毒素 A、玉米赤霉烯酮等，可广泛污染农作物、植物及其副产品等。黄曲霉毒素是一种毒性极强的剧毒物质，目前少数国家和地区对中药材制定了黄曲霉毒素和赭曲霉毒素 A 的限量标准。《中国药典》2010 年版一部及其增补本收载了桃仁、僵蚕、酸枣仁等药材黄曲霉毒素的残留限量检测（分析均采用柱后碘衍生化，荧光检测器），规定药材中黄曲霉毒素 B₁ 的量不得过 5 μg/kg，黄曲霉毒素（B₁ + B₂ + G₁ + G₂）含量不得过 10 μg/kg。欧盟规定肉豆蔻、干姜、姜黄中的赭曲霉毒素 A 的限量为 15 μg/kg，甘草根的提取物中赭曲霉毒素 A 的限量为 20 μg/kg。

中药真菌毒素限量标准的制定首先基于毒理学的研究成果，在人体每日最大允许摄入量的基础上，结合用法用量以及疾病治疗中的暴露评估和危险评估，最终确定最高残留限度^[60-61]。

3 结语

药物的杂质研究伴随着研发设计、过程控制、放行检验、毒理学观察等环节，搞清楚杂质的来龙去脉是研究控制手段的前提，在制定质量标准的杂

质限度时,要充分考虑杂质的量与安全性,同时关注生产工艺的科学性和经济性,统计数批产品的放行数据和稳定性研究报告,综合各因素制定杂质的可接受限度。近年来,随着新的分析检测技术的问世和推广,药物中微量的有害物质正逐渐被阐明揭示其化学结构或物质基础,在杂质的安全性研究上也涌现了一些快速筛选平台,为今后产品的质量控制在奠定了基础。自2007年起,我国新药质量研究水平呈现了跨越式发展,不管是新药还是仿制药,杂质研究越来越清晰,而限度的研究既要满足当前环境下主流的法规原则,又要突出品种的个性化特点,将杂质水平与药物安全性的关联性研究透彻,这也是今后研究的方向之一。

参考文献

- [1] 张哲峰. 药物杂质研究中风险控制的几个关键问题 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(5): 327-333.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 化学药物杂质研究技术的指导原则 [S]. 2005.
- [3] ICH. Q3A(R2): *Impurities in New Drug Substances* [S]. 2006.
- [4] ICH. Q3B(R2): *Impurities in New Products* [S]. 2006.
- [5] FDA. *Guidance for Industry ANDAs: Impurities in Drug Products* [S]. 2010.
- [6] 中国药典 [S]. 二部, 2010: 附录 204-206.
- [7] EMEA. *Guideline on Setting Specifications for Related Impurities in Antibiotics* [S]. 2012.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 化学药物残留溶剂研究技术指导原则 [S]. 2005.
- [9] FDA. *Residual Solvents in Drug Products Marketed in the United States* [S]. 2009.
- [10] ICH. Q3C(R5): *Impurities: Guideline for Residual Solvents* [S]. 2011.
- [11] EMEA. *Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities. Committee for Medicinal Products for Human Use* [S]. 2006.
- [12] EMEA. *Questions and Answers on the Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities* [S]. 2010.
- [13] FDA. *Guidance for Industry, Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended Approaches* [S]. 2008.
- [14] EMEA. *Guideline on the Assessment of Genotoxicity of Herbal Substances/ Preparations* [S]. 2008.
- [15] ICH. M7: *Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk* [S]. 2010.
- [16] ICH. S2(R1): *Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use* [S]. 2012.
- [17] EMEA. *Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalyst or Metal Reagents* [S]. 2002.
- [18] EMEA. *Guideline of the specification limit for residues of metal catalysts or metal reagents* [S]. 2008.
- [19] 中国药典 [S]. 二部, 2010, 附录 58.
- [20] USP35-NF30 [S]. 附录 <231>, Heavy Metal, 2012: 145-146.
- [21] USP35-NF30 [S]. 第二增补版, 附录 <232>, Elemental Impurities-Limits, 2012: 5633-5634.
- [22] USP35-NF30 [S]. 第二增补版, 附录 <233>, Elemental Impurities-Procedures, 2012: 5634-5637.
- [23] ICH. Q3D: *Impurities-Guideline for Metal Impurities* [S]. 2013.
- [24] ICH. Q6A: *Specifications for New Drug Substances and Products* [S]. 1999.
- [25] 国家食品药品监督管理局. 化学药物质量标准建立的规范化过程技术指导原则 [S]. 2005.
- [26] ICH. Q8 (R2): *Pharmaceutical Development* [S]. 2009.
- [27] EDQM. *Technical Guide for the elaboration of monographs* [S]. 2011.
- [28] 何 伍, 王海学. 浅谈药物杂质限度的制订方法 [J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(10): 787-790.
- [29] 张哲峰, 魏农农, 鲁 爽. 浅谈杂质限度制定的一般原则 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(16): 1457-1460.
- [30] 黄晓龙. 对创新药研发中杂质限度确定的几点思考 [J]. 中国新药杂志, 2007, 16(2): 97-99.
- [31] 陈 震. 有关物质的研究与新药注册 [J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(11): 872-876.
- [32] 祝清芬, 李 涛, 国 明, 等. 药物杂质的毒理学评价要求及进展 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19(24): 2271-2276.
- [33] 张哲峰. 我国药物研发中杂质研究面临的挑战与思考 [J]. 药品评价, 2010, 7(18): 12-19.
- [34] 周 怡. 化学药品标准中杂质控制及其限度的建立 [J]. 药物生物技术, 2010, 17(2): 181-184.
- [35] Jacobson-Kram D, McGovern T. Toxicological overview of impurities in pharmaceutical products [J]. *Adv Drug Delivery Rev*, 2007, 59(1): 38-42.
- [36] Martin E, Humfrey C, Teasdale A. Toxicology evaluation of impurities during small molecule drug development [J]. *Toxicol Lett*, 2013, 221: S255-S256.
- [37] Riley C M, Rosanske T W, Rabel Riley S R. *Specification of Drug Substances and Products: Development and Validation of Analytical Methods* [M]. Amsterdam: Elsevier Science Ltd., 2013.
- [38] 药典委员会. 9302 中药有害残留物限量制定指导原则 (2015 版公示稿) [S]. 2014.
- [39] 中国国家科学数字图书馆. 化学学科门户 [DB/OL].

- <http://chemport.ipe.ac.cn/ListPageC/L71.shtml>.
- [40] 化学物质毒性数据库 [DB/OL]. <http://www.drugfuture.com/toxic/>.
- [41] European chemical Substances Information System [DB/OL]. [2014-05-20]. <http://esis.jrc.ec.europa.eu/index.php?PGM=dat>.
- [42] 美国国家毒理学纲要 [DB/OL]. <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=D16D6C59-F1F6-975E-7D23D1519B8CD7A5>.
- [43] APIC. Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants [EB/OL]. (2000-08-10) [2014-05-20]. <http://apic.cefic.org/pub/pub-cleaning-validation.pdf>.
- [44] 龙再浩, 陈小青, 马中春. 危险度评价中的毒理学关注阈值原则 [J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 20(1): 79-81.
- [45] The Carcinogenic Potency Database [DB/OL]. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/index.html>.
- [46] Müller L, Mauthe R J, Riley C M, *et al*. A rationale for determining, testing and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2006, 44(3): 198-211.
- [47] Teasdale A. *Genotoxic Impurities: Strategies for Identification and Control* [M]. New York: Wiley, 2010.
- [48] Sutter A, Amberg A, Boyer S, *et al*. Use of in silico systems and expert knowledge for structure-based assessment of potentially mutagenic impurities [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013, 67(1): 39-52.
- [49] EMEA. How to limit triethylamine used in the manufacturing process [EB/OL]. (2013-08-25) [2014-05-20]. http://www.edqm.eu/en/page_630.php?rubrique=455.
- [50] 李平, 迟颖红, 陈东英. 药物中石油醚残留量的气相色谱检测方法学探讨 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(3): 427-430.
- [51] 国家食品药品监督管理总局药品审评中心. 再谈大孔树脂 [OL]. [2014-05-20]. <http://www.cde.org.cn/dzkw.do?method=largePage&id=1259>.
- [52] 韩鹏, 王玉, 陈民辉, 等. 关于构建药品限量元素检测体系的思考 [J]. 中国药品标准, 2013, 14(2): 83-87.
- [53] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [54] 中华人民共和国外贸行业标准药用植物及制剂进出口绿色行业标准 [J]. 中药研究与信息, 2001, 3(8): 9-10.
- [55] 王康蕊, 严相平. 甘油果糖注射液中 5-HMF 限度的研究 [J]. 药学与临床研究, 2012, 20(1): 38-39.
- [56] 陈睿, 刘惠军, 储忠英, 等. 上海市场 13 种中药饮片二氧化硫残留情况检测分析 [J]. 中国药事, 2013, 27(5): 457-459.
- [57] 陈玉武, 贺学锋, 高晓昱, 等. 完善中药材二氧化硫残留量测定方法及限量标准的建议 [J]. 中国药事, 2012, 26(6): 605-610.
- [58] 杨东花, 刘峰, 黄壮壮, 等. 中药外源性有害物质控制标准及其去除方法研究进展 [J]. 陕西中医, 2012, 33(5): 629-632.
- [59] 季申. 中药材中农药残留检测方法研究的进展与展望 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(17): 1287-1294.
- [60] 李峻媛, 万丽, 杨美华. 真菌毒素限量标准及其在中药中的研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 602-609.
- [61] 黄莉, 张浩, 丁伟琴, 等. 中药中真菌毒素污染问题 [J]. 海峡药学, 2009, 21(6): 95-99.