

【审评规范】

“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”ICH M7(R2)问答文件的解读及非临床审评关注点

周植星, 崔 岚, 马 磊, 黄芳华
国家药品监督管理局 药品审评中心, 北京 100022

摘要: ICH M7 “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”是一个关于药物致突变杂质的指导原则,旨在为致突变杂质的鉴定、分类、定性和控制提供一个可行的框架方案,以控制其潜在的致癌风险。自 ICH M7 发布以来,关于 DNA 反应性(致突变)杂质的指导原则已在全球范围内获得了大量的实践经验,同时也提出了对该类杂质的评估和控制做进一步明确阐述的需求。ICH 于 2022 年 5 月发布了 ICH M7 (R2) 问答,该文件旨在为 ICH M7 提供进一步的明确和解释,并对以下 2 个方面促进和提高一致性和协调性:评估和控制 DNA 反应性(致突变)杂质的考虑,药品开发、上市许可申请和/或药品主文件中应提供的信息。介绍 ICH M7 (R2) 问答文件的起草背景,对其进行分析和解读,并阐述非临床审评关注点,以促进业界对该文件的理解和运用,以控制杂质的潜在致癌性风险。

关键词: 杂质; 致突变; 指导原则; 致癌性风险; 非临床研究

中图分类号: R951 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 12-2697-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.12.001

Interpretation to ICH M7(R2)Q&As and points to consider for non-clinical reviews

ZHOU Zhixing, CUI Lan, MA Lei, HUANG Fanghua
Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China

Abstract: ICH M7 "Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk" is a guideline for mutagenic impurities in pharmaceuticals. The purpose of this guideline is to provide a practical framework that is applicable to the identification, categorization, qualification, and control of these mutagenic impurities to limit potential carcinogenic risk. Since the ICH M7 Guideline was finalized, worldwide experience with implementation of the recommendations for DNA reactive (mutagenic) impurities has given rise to requests for clarification relating to the assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities. ICH M7(R2) Questions and Answers (Q&As) was approved by ICH on May 2022, and the Q&As document is intended to provide additional clarification and to promote convergence and improve harmonization of the considerations for assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities and of the information that should be provided during drug development, marketing authorization applications and/or Master Files submissions. This article mainly introduces the drafting background and process of ICH M7 (R2) Q&As document, and also introduces and interprets the main content of the document, proposes some points to consider for and the non-clinical reviews, in order to promote the understanding and application of this document, and to limit potential carcinogenic risk of impurities.

Key words: impurities; mutagenic; guidance; carcinogenic risk; non-clinical studies

化学原料药的合成涉及反应物、试剂、溶剂、催化剂和其他加工助剂的使用。因化学反应和终产物降解,所有原料药及制剂中均存在杂质。国际人

用药品注册技术协调会(International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)制定的指导原

收稿日期: 2024-09-16

第一作者: 周植星, 博士, 副研究员, 主要从事新药药理毒理审评工作。E-mail: zhouzhx@cde.org.cn

*通信作者: 黄芳华, 博士, 主任药师, 主要从事新药药理毒理审评工作。E-mail: huangfh@cde.org.cn

则"ICH Q3A(R2):新原料药中的杂质"^[1]和"ICH Q3B(R2):新药制剂中的杂质"^[2]为大多数杂质的定性和控制提供了指导,但其对DNA反应性杂质的指导有限。"ICH M7: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"是关于致突变杂质的鉴定、分类、定性和控制的指导原则,其最终目的是控制该类杂质的潜在致癌性风险^[3]。ICH M7意在补充ICH Q3A(R2)、Q3B(R2)和ICH M3(R2):支持药物进行临床试验和上市的非临床安全性研究指导原则^[4]。

ICH M7强调,为把致癌风险控制在可忽略的程度,制订致突变杂质的限度时,需同时兼顾安全性和质量风险管理。ICH M7考虑了用药人群的具体情况,对原料药或制剂中残留或可能残留的致突变杂质进行评估和控制给出了建议。ICH M7于2014年6月5日发布,ICH M7(R1)附录于2017年5月31日发布,ICH M7(R2)及ICH M7(R2)附录于2023年4月3日发布,为现行版指导原则。中国药品监督管理局于2017年加入ICH后,ICH M7指导原则已在中国实施。

自ICH M7发布以来,关于DNA反应性(致突变)杂质的指导原则已在全球范围内获得了大量的实践经验,同时也提出了对该类杂质的评估和控制做进一步明确阐述的需求。ICH于2018年启动了ICH M7(R2)问答的起草工作,并于2022年5月24日正式发布。ICH M7(R2)问答文件^[5]旨在为ICH M7提供进一步的明确和解释,并对以下2个方面促进和提高一致性和协调性:评估和控制DNA反应性(致突变)杂质的考虑,药品开发、上市许可申请和/或药品主文件中应提供的信息。本文介绍ICH M7(R2)问答的起草背景,对其进行介绍和解读,并阐述与ICH M7相关的非临床研究关注点,以促进药品研发企业理解和运用该指导原则,控制药品杂质的致癌性风险。

1 ICH M7(R2)问答的起草背景

ICH M7自2014年发布实施以来,对于研究和识别致突变杂质的潜在致癌性风险起到了很好的指导作用,但在指导原则的实施过程中也陆续发现了一些问题。ICH在2018年3月启动了M7的维护修订计划。目前,M7已更新的主要内容包括:(1)新增问答(Q&A)文件。(2)对ICH M7(R1)注释第7项下的内容进行修订:由于临床治疗技术的进步,M7(R2)将艾滋病(HIV)患者的生存期从1~10年修改为>10年,同时相应地提高了杂质限度要

求(问答文件中有专题阐述)。(3)在已有的M7(R1)14个杂质安全性各论的基础上,增加了7个新的致突变杂质的安全性各论,相应地给出了21个杂质的安全性限度。

2020年6月29日ICH M7(R2)问答文件完成第2阶段,上网公开征求意见。在征求意见中,业界反馈了超过100个问题,在第3阶段专家工作组(EWG)进行了详细讨论。2022年5月24日,ICH M7(R2)问答文件在第4阶段获得ICH大会批准。2023年4月3日,ICH M7(R2)在第4阶段获得ICH大会批准。2023年5月24日,针对第12页中抗HIV药品致突变杂质限度的实施时间进行纠错,由ICH M7(R2)问答进入第4阶段之日起18个月后实施,更改为M7(R2)进入第4阶段之日起18个月后实施。2024年1月3日,国家药品监督管理局发布公告,M7(R2)指导原则正文、问答及附录即日起在我国正式实施^[6]。

2 ICH M7(R2)问答文件的主要内容

与ICH其他问答文件一致,ICH M7(R2)问答文件主要以问答的形式为ICH M7正文提供进一步的明确和解释。该文件分为前言和25个问答,对正文的11个章节中的引言、指导原则的适用范围、总则、已上市药品的注意事项、危害评估因素、风险表征、控制策略和文件8个章节的部分内容进行了明确和解释。下文分章节介绍和解读其中的内容,为方便ICH M7(R2)问答的原文进行对照阅读,以下部分在问题序号后同时标注该问答文件的原序号。

2.1 引言

引言部分有4个问答。

问题1(问答文件1.1):正文注释1阐述了ICH M7与ICH Q3A和Q3B之间关系,其中2个术语“潜在致突变性”和“潜在遗传毒性”容易混淆,这2个术语是否可以互换?回答:这2个术语不可以互换。潜在致突变性是指化合物诱发点突变的能力[即由细菌回复突变(Ames)试验检测],而潜在遗传毒性指致突变性、致染色体断裂或诱导多倍体形成的潜力。ICH M7特别关注致突变性。

问题2(问答文件1.2):对于日摄入量(TDI) \leq 1 mg的杂质,如何评估该杂质的潜在致突变性?回答:在ICH M7中,对TDI \leq 1 mg的杂质,(定量)构-效关系[(Q)SAR]是初步评估潜在致突变性的适当方法。当鉴定存在警示结构时,可以进行一个追加体外评估(例如Ames试验),或者采用毒理学关注阈值(TTC)来控制杂质。无论哪种评估得出阴性结果

均可将杂质归为第5类。Ames 试验的结果权重高于(Q)SAR 的预测结果。此外,建议通过(Q)SAR 预测进行警示结构评估,不应仅凭“目测”评估得出无警示结构结果就将杂质归为第5类。

问题3(问答文件1.3):对于TDI超过1 mg的杂质,致突变性如何评估? 回答:根据ICH M7注释1所述,1 mg是指杂质的绝对量,与ICH Q3A/B中的鉴定限度或界定限度没有对应关系。对于需长期服用的药物,如果一个杂质的TDI超过1 mg,同时在2个适当的(Q)SAR 系统中均为阴性预测结果,则可以需要开展最低筛选的遗传毒性试验(点突变和染色体畸变)。

问题4(问答文件1.4):如果某种杂质在2个适当的(Q)SAR 系统中均为阴性预测结果,并且TDI低于或等于1 mg,是否仍建议进行进一步的遗传毒性试验? 回答:不建议,如果某种杂质在2个适当的(Q)SAR 系统中均为阴性预测结果,并且TDI \leq 1 mg,无需进行进一步遗传毒性试验。

解读:引言部分的4个问答,主要是关于遗传毒性和致突变毒性的关系以及杂质TDI是否超过1 mg或不超过1 mg的不同评估策略。我国之前业界对于M7所关注的杂质曾称之为“遗传毒性杂质”和“基因毒性杂质”等,这次明确了M7关注的是“致突变”杂质,即能与DNA反应的杂质,可通过体外Ames 试验检测。另外,本问答文件还明确了对于TDI超过1 mg的杂质,如果2种(Q)SAR 系统预测为阴性,可能考虑开展最低筛选的遗传毒性试验(点突变和染色体畸变),这也是ICH Q3A/B的要求,因为TDI超过1 mg,超过了ICH Q3A/B界定限,可能需要进行界定。

2.2 指导原则的适用范围

指导原则的适用范围部分有1个问答。

问题(问答文件2.1):半合成的原料药和制剂是否包含在ICH M7的适用范围内? 回答:是,在某些情况。如果如ICH Q11所定义的半合成原料药的生产步骤可能引入致突变杂质或降解产物(如发酵产品的后修饰或连接子的后期引入),则需要进行风险评估。在半合成的原料药和制剂的生产过程中使用以下化合物应视为包含在ICH M7的应用范围内:化学合成的中间体和其中实际存在的杂质和试剂。

解读:关于ICH M7适用范围,适用于化药原料药和制剂,不适用于生物制品、肽类、寡核苷酸、放射性药物、发酵产品、草药、动物或植物来源的粗制

品;也不适用于ICH S9所涉及的拟用于晚期癌症适应证的原料药和制剂。另外,某些情况下拟用于其他适应证的原料药本身在治疗浓度下就存在遗传毒性,且预测可能会增加致癌风险,在这些情况下,暴露于致突变杂质不会显著增加原料药的致癌风险,因此,杂质可以按非致突变杂质进行控制。

2.3 总则

总则部分有2个问答。

问题1(问答文件3.1):非致突变的致癌性杂质是否应按照ICH M7进行控制? 回答:否,在Ames 试验中呈阴性的致癌物不通过DNA 反应性机制致癌(如乙酰胺和羟胺),因此不适用于ICH M7指导原则。

问题2(问答文件3.2):致突变的非致癌性杂质是否应按照ICH M7进行控制? 回答:否,对于在适当且良好开展的动物实验中被证明无致癌性的致突变物,将归为第5类杂质。

解读:致突变性和致癌性不是互为必然的因果关系,对于Ames 试验为阴性的致癌物不通过DNA 反应性机制致癌,不适用于M7。另外,对于Ames 试验为阳性,适当且良好开展的体内致突变试验[其试验需满足ICH M7(R2)注释3的要求]结果为阴性,或者适当且良好开展的致癌性试验结果为阴性,方可将杂质归为5类。

2.4 已上市药品的注意事项

已上市药品的注意事项部分有1个问答。

问题(问答文件4.1):ICH M7正文中“4.3 已上市药品的临床使用变更”中“临床使用剂量的显著增加”是什么意思? 回答:如果活性药物成分(API)剂量的增加可能导致任何致突变杂质的水平超过可接受限度,则视为显著增加(见ICH M7正文的表2和表3以及附录)。在这种情况下,建议重新评估致突变杂质的限度。

解读:在这一条中的“显著增加”不是指统计学上的差异和纯粹数量上增加的倍数,而是指剂量增加是否导致摄入的致突变杂质超过可接受限度。

2.5 危害评估因素

危害评估因素部分有4个问答。

问题1(问答文件6.1):应向监管机构提供哪些资料和/或文件,以充分证明内部开发或非通用的(Q)SAR 模型的有效性? 回答:ICH M7第6节指出:“(Q)SAR 模型采用的这些预测方法学应遵循经济合作与发展组织(the Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)制订的一般

验证原则[OECD Validation, 2007]^[7]。

在 ICH M7 中, OECD 的(Q)SAR 验证原则为:(1)确定的终点——该模型应采用参照 OECD 标准方案开展的体外细菌回复突变试验生成的试验数据来进行训练。(2)明确的算法——用于构建模型的算法应公开。应该明确该模型是基于统计规则(通过机器学习进行构建)还是专家规则(根据源于专家的知识进行构建)。(3)确定的应用域——应描述受试化合物是否在模型的应用域内,以及该应用域如何计算。当该模型没有足够的信息足以对化合物做出可靠的预测时,应向用户发出警示。(4)模型的拟合度、耐用性和可预测性的适当评估——应对模型进行评估且证明其可充分预测细菌回复突变。应采用的标准验证技术包括“召回率”(recall)、交叉验证和外部验证。还应提供该模型无过度拟合的证据。(5)机制解释——是否有足够的信息对相关的机制进行评估(如特定描述符)。

对于任何内部开发或非通用的系统,作为证明每个模型如何遵循以上这些原则,并了解(Q)SAR 模型是如何开发和验证的最低要求,根据监管机构的要求,申请人需提交 OECD(Q)SAR 模型报告格式(QMRF)[OECD QMRF, 2017]^[8]。该 QMRF 模板总结并报告了关于(Q)SAR 模型的关键信息,其中包括所有验证研究的结果以及关于模型针对给定化合物的适用性的补充信息。监管机构可以根据各自对特定模型的经验要求申请人提供这些信息。

问题2(问答文件6.2):如 ICH M7 中所述,采用2个(Q)SAR 模型之一获得了超出应用域或非覆盖范围的结果时,杂质可否归为第5类? 回答:否,从2种(Q)SAR 模型之一获取了超出应用域或非覆盖范围的结果时,还需要进行额外的评估才能将该化合物归为第5类杂质。

鉴于已对化学结构和 DNA 反应性之间的关系有了充分理解,因此具有潜在致突变性的结构不太可能出现超出“应用域”的情况。然而,专家评价可进一步确保是否可以将此类杂质归为第5类。专家评价可能包括采用以下1项或多项内容^[9]:(1)与具有细菌回复突变试验数据、且结构相似的类似物进行比较(交叉参照法)。(2)由专家对化学结构进行评价以确定该化合物是否具有 DNA 反应性。(3)采用相同方法(如基于专家规则或统计规则)的其他经验证的(Q)SAR(参见本节问题1即原文件6.1)模型输出结果,该结果应在其应用范围内。

问题3(问答文件6.3):如果杂质在 Ames 试验中呈阴性,而在染色体断裂性试验(如染色体畸变试验)中呈阳性,如何按照 ICH M7 分类系统对该杂质进行分类? 回答:如果杂质在 Ames 试验中呈阴性,则视为第5类杂质。ICH M7 不适用于在染色体断裂性试验中呈阳性的杂质。

问题4(问答文件6.4):请明确注释3中所列试验作为体外致突变性的体内相关性的追加试验的理由。回答:如果一个杂质在 Ames 试验中呈阳性,且该杂质水平无法控制在适当的可接受限度内,则可以追加一个包含致突变终点(致突变性)的体内试验。在提供科学合理性依据(如注释3所示)以支持其应用的情况下,也可接受进行注释3中所述的其他追加试验(表1)。对于上述任何1项试验,应按照 ICH S2 证明暴露充分。

解读:由于2种互补的(Q)SAR 模型(基于统计规则和专家规则)预测均为阴性结果,则无需进一步试验即可归为第5类杂质,如果出现假阴性结果则会出现大的风险,因此对(Q)SAR 模型的要求非常高。对于任何非通用的(Q)SAR 模型有严格的要求,其采用的预测方法学应遵循 OECD 制订的一般验证原则。在采用两种认可的(Q)SAR 模型进行预测时,需关注其预测结果是否可靠,若其中一种得到超出应用域或在非覆盖范围的结果时,则需进行额外评估中,如采用能达到要求的专家评价、进行 Ames 试验、进行合适的以致突变作为终点的体内试验等。以体内试验作为证明 Ames 试验阳性结果无体内相关性时,需根据其 Ames 试验阳性结果的情况选择适当的试验。在什么条件下选择何种体内试验详见 ICH M7(R2)的注释3(表1),而且该体内试验必须按照 ICH S2 指导原则的要求证明体内暴露充分,才认可体内阴性结果。

2.6 风险表征

风险表征部分有5个问答。

问题1(问答文件7.1):如果 Ames 试验结果呈阳性的杂质随后在适当的体内试验中进行了检测,且结果明确为阴性,是否足以证明无体内相关性? 回答:是。一项良好开展且科学合理的体内试验(见2.5问题4即原文件6.4),足以证明无体内相关性。如果体内试验结果为阴性,该杂质可归为 ICH M7 分类的第5类。

问题2(问答文件7.2):如果一个 Ames 试验结果阳性的杂质无法控制在可接受限度内,随后在一个适当的体内试验中进行了检测且结果为阳性,是

表1 体外致突变物(Ames试验结果为阳性)的体内相关性的试验^[3]Table 1 Tests to investigate the *in vivo* relevance of *in vitro* mutagens (positive bacterial mutagenicity)^[3]

体内试验	证明所选择试验符合目的的因素
转基因突变试验	任意细菌致突变结果为阳性;需证明试验组织/器官的选择的合理性
<i>Pig-a</i> 试验(血液)	直接作用的致突变剂(细菌致突变试验在非S9代谢活化条件下结果为阳性)*
微核试验(血液或骨髓)	直接作用的致突变剂(细菌致突变试验在非S9代谢活化条件下结果为阳性)和已知染色体断裂剂*
大鼠肝脏程序外DNA合成(UDS)试验	尤其是细菌致突变试验仅在S9代谢活化条件下结果为阳性 已知由肝脏负责代谢的产物: 在所用试验种属中产生 诱导大的加合物
彗星试验	需要合理性依据(化学类别特异性作用模式,形成碱基不稳定位点或单链断裂,这些为具有导致致突变潜力的DNA前期损伤) 证明试验组织/器官的选择的合理性
其他	具有说服力的合理性依据

*对于间接作用的致突变剂(需要代谢活化),要证明有足够的代谢物暴露。

*For indirect acting mutagens (requiring metabolic activation), adequate exposure to metabolite(s) should be demonstrated.

否支持设置化合物特定杂质限度? 回答:如果一个致突变杂质不能按照TTC(或短于基于生命周期的限度)进行控制,来自于一个适当的体内试验的结果可以用于补充证据权重法的已有数据,来支持一个基于具体问题具体分析的更高的限度。然而,单独的体内基因突变试验目前还不能直接评估癌症风险,因为其终点是致突变而不是致癌性(即它们被用于危害识别)。

问题3(问答文件7.3):短于终生(LTL)方法是否可应用于可接受摄入量(AI)或每日允许暴露量(PDE),使用ICH M7正文表2所示的相同比例? 回答:ICH认为LTL方法可以应用于基于TTC或特定化合物/类别AI设置暴露限度的化合物。然而,此方法并不适用于PDE,因为对于阈值相关机制,给药时长反应的线性尚未得到充分证明。对于短期暴露(30 d或更短),更高的暴露水平根据具体情况也可能被接受。

问题4(问答文件7.4):为什么在临床使用情形表中将HIV疾病转移至“服药时长>10年至终生”类? 该变更应如何实施? 回答:由于HIV疾病临床治疗的进展,疗程类别也发生了变化。为了避免已上市HIV药物的供应中断,此变更将不适用于目前已上市的产品。例如,对于新的原料药供应商,如果该供应商使用相同的合成路线生产的原料药是该特定区域内销售的现有上市制剂的组分,则可接受摄入量仍为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ (见ICH M7第4.1节)。

对于ICH M7(R2)进入第4阶段之日起18个月

后提交的HIV治疗相关药物注册申请,在以下情况下将采用 $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 或其他适当的可接受摄入量:(1)处于临床开发和后续上市申请阶段的新原料药和新制剂;(2)原料药合成的变更导致产生新杂质或现有杂质的可接受标准放宽;(3)处方、组分或生产工艺的变更导致产生新的降解产物或已有降解产物的可接受标准放宽;(4)通过药物主文件(DMF)引入新来源的原料药,而该DMF持有者在相关区域内无既往批准的DMF;(5)如ICH M7第4.1节所述的特定合成步骤的变更;(6)如ICH M7第4.4节所述的新发现的第1类或第2类杂质、关注队列中的结构或相关杂质的新的危害性数据。

问题5(问答文件7.5):当原料药质量标准中确定了3种或3种以上的第2类或第3类杂质时,“表2:单个杂质的可接受摄入量”是否适用? 回答:适用。在这种情况下,应按照表2中的限度,在原料药质量标准中列出各“单个杂质”的限度(例如对于>10年至终生的情况,不得超过 $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)。此外,应按照表3中的限度,在原料药质量标准中列出“总致突变杂质”的限度(例如对于>10年至终生的情况,不得超过 $5 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)。如指导原则中所述,化合物特异性或类别相关的可接受限度(1类)和在制剂中形成的降解产物不包含在总致突变杂质限度中。

解读:关于体外致突变(Ames试验)试验结果为阳性,一般按TTC控制杂质限度,如果不能按TTC控制,来自于一个适当的体内试验的结果可以用于补充证据权重法的已有数据,来支持一个更高

的限度,该限度应基于具体问题具体分析原则确定。但是体内致突变试验结果只是用于致癌性风险识别,而不能定量用于致癌性风险评估,所以不能用该数据直接计算AI。

对于HIV药物的调整,由于近年来对于HIV治疗取得了较大的进展,目前的治疗方法已大幅度提高患者的生存年限,所以把该类药物服药时长由1~10年类提高到>10年至终生类并收紧杂质的可接受限度是科学合理的。从患者用药角度出发,为了避免已上市HIV药物的供应中断,此变更将不适用于目前已上市的产品。但是对于ICH M7(R2)进入第4阶段之日起18个月后提交的注册申请均适用于新的标准。

2.7 控制策略

控制策略部分有6个问答。

问题1(问答文件8.1):什么时候适合采用方法4的控制策略?回答:当某种致突变杂质在最终原料药中存在的风险可忽略不计时,可采用方法4。如果基于科学原理(如杂质反应性或溶解度)的预测性清除计算产生的杂质水平低于TTC或AI的1%时,则可认为风险可忽略不计。如果根据预测性清除计算产生的杂质水平大于或等于TTC或AI的1%时,则应提供显示杂质水平低于TTC或AI的10%的实测清除因子(即掺杂和清除数据),以证明采用方法4的合理性。在进行清除计算和生成分析数据时,应考虑与工艺相关的条件。监管机构将基于具体问题具体分析原则评估方法4的可接受性,包括要求提供额外的支持性数据。对于最后一步引入的杂质也参见本节下文中的问题3(原文件8.3)。

问题2(问答文件8.2):将预测性清除计算用于方法4控制时,应考虑哪些因素?回答:当对方法4控制使用预测性清除计算时,应考虑以下因素:(1)预测性清除计算应基于申请中所述的原料药生产工艺,并应考虑每一步骤中杂质的反应性、溶解度、挥发性和其他因素。预测性清除计算应采用保守的数值与方法,因为预测性清除通常不依赖于实验性确证。文献报道^[10-11]描述了基于科学原理的预测性清除计算方法示例。可基于文献或软件进行预测性清除计算。(2)用于证明预测性清除计算合理性的信息汇总(即杂质反应性或溶解度数据、工艺相关条件下的掺杂和清除数据)应以生产工艺知识、最终原料药的风险以及药物开发阶段为指导。(3)在申请中提交的预测性清除计算的合理性依据,可包括从高水平总结到关于计算的详细信

息(如单个清除因子的科学依据)以及其他支持性资料。当原料药中的预测杂质水平接近TTC或AI时,宜提供更详细的关于计算的资料。即使当时未提交,也应在要求时提供有关如何推导得出各清除因子的资料。

问题3(问答文件8.3):第8.2节“控制方法的注意事项”中“对于在最终合成步骤中引入的杂质,除另有合理性依据外,一般采用方法1的控制方法”是什么意思?回答:对于在最终合成步骤中引入或生成的致突变杂质,鉴于接近于最终产品,因此方法1是首选的控制策略。然而,当有合理性依据时,也可以使用方法2和3的控制策略。控制策略选择的因素也可能受到包括后续重结晶步骤的存在、高效的纯化方法(如色谱法、定义明确的结晶法)、杂质的反应性(例如高反应性试剂,如二氯亚砷)、杂质的物理性质(例如低沸点,如甲基氯)以及可用的数据(支持清除评估的分析数据)。在大多数情况下,对于在最后一个合成步骤引入或生成的致突变杂质,仅提供基于预测性的方法4控制策略的合理性依据是不够的,应提供支持性分析数据(参见本节问答1即原文件8.2)。

问题4(问答文件8.4):方法2和3控制策略是否允许进行定期确认性检验(即跨批检验)?回答:否。定期确认性检验不适用于方法2和3控制策略。在ICH M7第8.1节中,仅将定期确认性检验作为方法1的一种控制策略进行讨论。方法1的定期确认性检验策略的制定可参考ICH Q6A。方法1的定期确认性检验概念(根据ICH Q6A)通常应在批准后实施,并适用于最终原料药的检验。

问题5(问答文件8.5):如果一种致突变杂质在原料药中的检测数据在多个批次中始终<TTC的30%或AI的30%,是否足以支持在控制策略中不对该杂质进行检测的合理性?回答:否。仅凭批次数据证明致突变杂质始终<TTC的30%或AI的30%不足以支持采用方法4控制策略。然而,如果原料药中该杂质存在的风险可忽略不计,并具有适当的合理性依据,可考虑方法4控制策略。关于支持方法4控制策略的建议,参见本节问答1和2(原文件8.1和8.2)。

问题6(问答文件8.6):在生成分析实验数据以支持方法3和4控制策略时,对于生产规模如何考虑?回答:当产生实测的清除因子或确定中间过程控制点时,实验室规模的试验通常足够。这些试验应采用代表申请中所述的最终工艺,并应考虑实验

室和生产环境之间的规模和设备相关差异的潜在影响(如非均相系统中混合对杂质水平的影响、液-液相分离的质量等)。在观察到规模依赖性的情况下,建议对以中试规模或商业规模生产的批次进行确认性检验。对中试规模或商业规模的掺杂试验不做要求。

解读:在ICH M7正文控制策略中,给出了4种控制方法:方法1:原料药质量标准中包含杂质检查项,采用合适的分析方法将杂质控制在可接受限度以内。方法1的控制方式可以根据ICH Q6A进行定期确认性检测。如果在至少6个连续的中试批次或3个连续的生产批次中,原料药中的致突变杂质水平均低于可接受限度的30%,则可证明定期确认性检测是合理的。如果不满足该条件,则建议作为原料药质量标准中的常规检测项。方法2:在原料、起始物或中间体的质量标准中包含杂质检查项,或作为过程控制项,采用合适的分析方法将杂质控制在可接受限度以内。方法3:在原料、起始物料或中间体的质量标准中对杂质进行检测,或进行过程控制,制订一个高于原料药中该杂质可接受限度的标准,使用合适的分析方法并结合对杂质去向和清除的认知,及相关的工艺控制,保证原料药中的杂质的水平低于可接受限度而无需在后续工艺中再行检测。对实验室规模试验(鼓励采用掺杂实验)的数据进行分析(必要时可以采用中试规模或商业规模批次数据加以佐证),如果原料药中杂质水平低于可接受限度的30%,则采用该方法是合适的。方法4:明确工艺参数及其对残留杂质水平(包括去向和清除知识)的影响,确信原料药中的杂质水平将会低于可接受限度,则建议无需对该杂质进行分析检测(即不需要将杂质订入质量标准中)。方法4特别适用于那些自身不稳定的杂质(例如,与水迅速完全反应的二氯亚砷),或那些在合成路线早期引入并可被有效清除的杂质。

2.8 文件

文件部分有2个问答。

问题1(问答文件9.1):如果(Q)SAR预测是在药物开发过程中开展的,是否应在上市申请中重复这些预测?回答:用于针对ICH M7的(Q)SAR模型通常会定期更新,更新内容包含新的细菌回复突变试验数据和更精准的警示结构。申请人无需在药物开发过程中更新其(Q)SAR评估,除非存在安全性担忧,例如新获得的细菌回复突变试验数据和/或机制知识表明预测不正确。例如,在有理由质疑阴

性预测结果的情况下(如存在芳香胺,但模型给出了阴性预测结果),建议进行重新评估。建议申请人在首次上市申请之前再次运行(Q)SAR预测,以确保预测能够反映最新的可用数据。如果之后在其他监管辖区提交了上市申请,则可能需考虑进行重新评估。如果最初全球上市申请时的预测未使用最新版本的软件,也可能需要重新评估。总体而言,使用在2014年ICH M7发布之前开发的模型生成的预测结果被视为不可接受。

问题2(问答文件9.2):对于上市申请,哪些内容和通用技术文档(CTD)放置建议可以提高ICH M7风险评估和控制策略的清晰度?回答:在模块2中,应包括ICH M7风险评估和控制策略的简要总结(第2.3节和第2.6节)。在模块3中,应详细说明ICH M7的风险评估和控制策略。按照ICH M4Q和相关问答文件的要求,此类信息建议放置在CTD文档的相应模块(如3.2.S.3.2杂质或3.2.S.4.5原料药质量标准制定依据,以及3.2.P.5.5杂质表征或3.2.P.5.6制剂质量标准制定依据)。建议使用ICH M7危害评估和ICH M7杂质控制策略的汇总表来提高清晰度。(1)对于ICH M7危害评估表,建议的信息包括杂质的化学结构、单独的(Q)SAR结果(阳性/阴性预测,超出应用域)、细菌回复突变试验结果(阳性/阴性,如有)、ICH M7杂质类别(1~5)以及支持性信息[如细菌回复突变试验的信息/链接、文献报告、(Q)SAR专家分析等]。还应注明所使用的计算机系统(名称、版本、终点)。(2)对于ICH M7杂质控制策略表,建议的信息包括杂质来源(如引入的合成步骤、降解物等)、ICH M7杂质类别、清除因子(如测量值或预测值)、ICH M7控制方法(1~4)、控制策略(即包括中间过程或化合物检测原理)以及支持性信息(如合理性依据的信息/链接、计算)。还应注明每日最大剂量、TTC和拟定的治疗期限。(3)此外,如果模块3和模块4(包括毒性试验报告)使用不同的化合物命名规范,建议对化合物代号进行交叉引用。

在模块4中,应包括关于杂质安全性试验相关的完整资料[如细菌回复突变试验报告、(Q)SAR报告、其他遗传毒性试验报告、附加试验等],以支持风险评估和控制策略。这些资料通常置于4.2.3.7.6节“杂质”中(对于附加资料,参见ICH M4S),并且可以通过提供超链接与模块3交叉引用。

解读:关于(Q)SAR预测,申请人会在药物开发过程中开展,由于软件会定期更新,建议在首次上

市前再次运行(Q)SAR 预测,以确保预测能够反映最新的可用数据。如果最初全球上市申请时的预测未使用最新版本的软件,在其他监管结构申报时也可能需要重新评估。建议在通用技术文档(CTD)清晰地呈现 M7 风险评估和控制策略相关的内容,建议同时在药学综述 2.3 和药理毒理综述 2.6 简要总结相关内容,以便药学和药理毒理审评人员均可清晰地获得该部分信息。更详细的信息分别放在药学的模块 3 中和非临床的模块 4 中,模块 3 中应详细说明 ICH M7 的风险评估和控制策略,模块 4 中应提供关于杂质安全性试验相关的完整资料。

3 非临床审评关注点

对于致突变杂质相关的审评,非临床方面主要关注(Q)SAR 软件及数据、致突变试验数据和相关文献科学性等,下文就药理毒理专业审评常见问题进行分析。

3.1 (Q)SAR 软件预测关注点

(Q)SAR 软件预测对于致突变杂质风险评估非常关键,对于软件预测结果的可靠性至关重要,因为 2 种互补(Q)SAR 软件预测为阴性结果即可按一般杂质控制,无需进行进一步的试验进行验证。如果软件预测出假阴性结果,将增加药品上市后安全性风险。因此,需要采用公认、可靠的(Q)SAR 软件进行预测。目前,美国食品药品监督管理局(FDA)常用的基于统计学规则的软件有 CASE Ultra (MultiCASE, Inc.), Model Applier-Statistical Models (Leadscope, Inc.) 和 Sarah Nexus (Lhasa Limited), 基于专家规则的软件有 CASE Ultra-Expert Alerts (MultiCASE, Inc.), Model Applier-Expert Alerts (Leadscope, Inc.) 和 Derek Nexus (Lhasa Limited)。这些软件也是目前在国内的注册申请中常用软件。对于非公认、可靠的(Q)SAR 软件要谨慎,除非其采用的预测方法学能达到 OECD 对(Q)SAR 验证的原则,且需提供符合要求的模型验证资料。以下为一个案例。

案例 1:某品种,杂质 A,结构内含有警示片段,未对其进行方法学研究,仅按未知单杂进行控制。发补要求提出对可能的致突变杂质进行分析和研究。申请人分别采用基于统计算法的 X 软件和基于规则算法的 Y 软件对基因毒性进行了预测,结果判断为该化合物基因毒性风险较低,不属于致突变杂质。经查询,Y 软件是由欧盟委员会联合研究中心开发,向公众免费开放,用于化合物的分级和毒

性预测的软件,属于基于专家规则的软件。X 软件是由某公司开发的化合物预测软件,可预测化合物的 PK、毒性等性质参数,毒性预测模块中包含有基因毒性,包括染色体变异性和致突变性,属于基于统计规则的软件计算。均未查询到以上软件是否经 OECD 的验证原则进行了验证。申报资料也未提供以上 2 个软件方法学验证报告,审评对于以上软件预测结果不予认可。

3.2 致突变试验关注点

用于确定杂质致突变性的试验包括体外试验(Ames 试验)和适当的体内试验(表 1)。根据 ICH M7(R2)问答,体内外试验和计算机预测结果的权重为体内试验>体外试验>(Q)SAR,即 Ames 试验阴性结果可推翻(Q)SAR 预测的阳性结果,适当的体内试验阴性结果可提示 Ames 试验阳性结果的体内相关性小。ICH M7(R2)注释 2 中说明:为了评估杂质的潜在致突变性,进行一个 Ames 试验,该试验需根据 ICH S2(R1)和 OECD471 指导原则制定全面充分的试验方案并进行。试验需遵循 GLP 规范;但是,不完全遵循 GLP 并不一定意味着所得数据不能用于支持临床试验和上市许可。不符合遵循 GLP 的偏差应在试验报告中描述。例如,试验样品的制备和分析可能不遵循 GLP 要求。在某些情况下,检测用细菌菌株可能会被限制在那些经证明对已鉴定的对警示结构敏感的菌株之中。对于分离或合成不可行的杂质,或化合物数量有限的杂质,可能无法达到目前试验指导原则所推荐的符合 ICH 要求的 Ames 试验的最高试验浓度。这种情况下,Ames 试验可以采用迷你化试验(mini-Ames 试验),并证实该方法与符合 ICH 的试验高度一致,以使得能在更高的浓度下进行试验以符合要求。

对于用于确定杂质致突变性的 Ames 试验,审评中常见的问题主要有:(1)由试验申请人自己进行,非 GLP 试验;(2)Ames 试验虽在 GLP 认证机构进行,但是未在 GLP 条件下进行;(3)试验方法学不规范。(4)采用 mini-Ames 试验,且该试验远达不到评价的要求;虽然指导原则说明了不完全是 GLP 条件下进行的试验以及在特殊条件下进行的 mini-Ames 试验也可能被接受,但是根据指导原则注释 2 描述,需要具体问题具体分析。结合当前的试验现状,mini-Ames 试验作为未被公认或未经充分验证的方法,将其作为排除致突变性的一项关键试验存在假阴性风险,而 Ames 试验时间成本和资金成本均不高,除非极为特殊的情况(如注释 2 中所述特

殊情况,且已努力进行过分离或合成却证明不可行),需进行GLP条件下的Ames试验且方法学必须符合ICH S2的要求。举例如下:

案例2:某品种,杂质B和杂质C,根据Derek和Sarah软件预测,含有警示结构,分类为3类。对杂质B和杂质C进行了GLP条件下的Ames试验,其试验结果均为阴性,拟按一般杂质进行控制。具体试验中,采用了5种菌株(TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535)进行试验。杂质B:在代谢或非代谢活化条件下,在每皿1.85~150 μg浓度范围内,结果为阴性。杂质C:代谢或非代谢活化条件下,在每皿0.49~40 μg浓度范围内,结果为阴性。Ames试验要求受试物的最高浓度主要取决于受试物对细菌的毒性和/或溶解度,可溶性、有细胞毒性化合物应根据细胞毒性情况确定最高浓度,进行评分的浓度应显示出明显的细胞毒性,细胞毒性通过回复突变菌落数目的减少,和(或)背景菌苔的消失或减少来检测。而该2项试验中浓度仅依据TA100菌株的细菌浓度来设计正式试验的检测浓度。杂质B:正式试验中,在评分的高浓度下对5种菌株均显示出明显的细胞毒性,故其试验结果可接受。杂质C:预试验中,对于TA100菌株在每皿78.13 μg及以上浓度时显示有细菌毒性,在每皿39.13 μg浓度时未显示细菌毒性,在正式试验对5种菌株均选择每皿40 μg浓度作为最高浓度。但是,正式试验中在该浓度下仅对TA97有弱的细菌毒性,其余4个菌株均未见细胞毒性,因细胞毒性未达到方法学的要求,因此不认可该试验阴性的结论。

ICH M7提出了若一个杂质在Ames试验呈阳性结果且该杂质水平无法控制在适当的可接受限度内时可追加一个合适的体内试验以提示该Ames试验无体内相关性的研究思路。但是,从业界开发经验来说,可能一个杂质在Ames试验呈阳性结果,采用的最主要措施是通过药理学来控制其限度使其符合要求,而非追加一个体内试验。另外,虽然M7注释3中列出了适用于不同Ames试验阳性结果情况的体内追加试验,但是从国内GLP机构经过验证的遗传毒性试验情况看,转基因突变试验在国内尚无法开展,Pig-a试验、大鼠肝脏程序外NDA合成试验、彗星试验进行较少,大多数机构未进行过充分的验证。作为以一个体内试验来排除Ames试验阳性结果提示的担忧,需要强有力的试验依据支持。为适应药物遗传毒性评价的需求,有能力的GLP机构可以考虑建立和充分验证相关的体内试

验,若属于国内均未建立的方法,则可考虑进行方法学联合验证。

4 结语

ICH M7明确了致突变杂质的鉴别方法,对致突变杂质进行了分类,并提出了相应的控制策略和监管理念,目的是限制致突变杂质的潜在致癌风险。ICH M7(R2)问答旨在为ICH M7提供更加明确的解释和说明,任何指导原则都不是法规、更不是教条,随着科学技术的发展,监管理念的更新和实践经验的积累,指导原则将更新和完善。目前M7(R2)指导原则正文、问答及附录已在我国正式实施。

在药品全生命周期中,药品上市许可持有人作为责任主体,对药品的安全性和提交给监管机构的所有数据的真实性、完整性和可靠性承担主体责任,其中,用于支持预测致突变杂质的软件应得到监管机构认可,支持性试验应规范,支持限度制定、毒性评估报告的数据源应稳健。在药品全生命周期中,药品上市许可持有人和监管机构需参考ICH M7的理念和方法,以控制药品致突变杂质的潜在致癌性风险,保护和促进公众健康。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] ICH Q3A(R2). Impurities in new drug substance s[EB/OL]. (2006-10-25)[2024-08-17]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29%20Guideline.pdf>.
- [2] ICH Q3B(R2). Impurities in new drug products [EB/OL]. (2006-06-02)[2024-08-17]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Concept%20Paper.pdf>.
- [3] ICH M7(R2). Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk [EB/OL].(2023-04-03)[2024-08-17]. https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf.
- [4] ICH. M3(R2). Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals [EB/OL]. (2009-06-11)[2024-08-17]. https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Guideline.pdf.
- [5] ICH M7 (R2) Q&As. Questions & Answers: ICH M7 (R2) Guideline: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk [EB/OL]. (2022-05-24)[2024-08-17]. <https://database.ich.org/sites/default/files/>

- M3_R2_Guideline.pdf.
- [6] 国家药品监督管理局. 国家药监局关于适用《M7(R2): 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》国际人用药品注册技术协调会指导原则的公告(2024 年第 1 号)[EB/OL]. (2024-01-05)[2024-08-17]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypqgtg/ypqgtg/20240105155616198.html>.
National Medical Products Administration. Announcement of the National Medical Products Administration on the Application of the Guiding Principles of the International Technical Coordination Committee for the Registration of Drugs for Human Use on the Evaluation and Control of DNA Reactive (Mutative) Impurities in Drugs to Limit Potential Carcinogenic Risks (M7 (R2)) (No. 1 of 2024) [EB/OL] (2024-01-05) [2024-08-17]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypqgtg/ypqgtg/20240105155616198.html>.
- [7] OECD. Guidance document on the validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationships[(Q)SAR] models. [EB/OL]. (2007-02-15) [2024-08-17]. https://www.oecd.org/en/publications/guidance-document-on-the-validation-of-quantitative-structure-activity-relationship-q-sar-models_9789264085442-en.html
- [8] OECD. (Q)SAR Model Reporting Format (QMRF) [EB/OL]. (2017-6-30) [2024-08-17] <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC107491/kjna28713enn.pdf>.
- [9] Amberg A, Andaya R V, Anger L T, et al. Principles and procedures for handling out-of-domain and indeterminate results as part of ICH M7 recommended (Q)SAR analyses [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2019, 102: 53-64.
- [10] Teasdale A, Elder D, Chang S J, et al. Risk assessment of genotoxic impurities in new chemical entities: Strategies to demonstrate control [J]. Org Process Res Dev, 2013, 17 (2): 221-230.
- [11] Barber C, Antonucci V, Baumann J C et al. A consortium-driven framework to guide the implementation of ICH M7 Option 4 control strategies [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2017, 90: 22-28.

[责任编辑 刘东博]