



药品中的遗传毒性杂质

法规和分析

基础导论

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

术语表	4
前言	5
1. 引言	7
药品中的杂质	7
本基础导论的内容	7
资源	8
2. 法规和指南	10
ICH 杂质方法——指南和分类	10
PhRMA 意见书	11
EMA 指南	13
FDA 指南草案	16
ICH M7 展望	17
遵照 ICH S2 (R1) 进行遗传毒性试验	17
实验室合规要求	18
3. 执行建议	20
4. 遗传毒性杂质的分析	23
分析挑战	23
高效液相色谱 (HPLC)	24
液相色谱质谱联用 (LC-MS)	25
气相色谱 (GC) 和 GC-MS	26
电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-OES) 和电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS)	27
核磁共振 (NMR) 光谱	27
参考文献	28

术语表

ADI	每日允许摄入量
ALARP	合理可行的最低限量
CFR	(美国) 联邦法规
CHMP	(欧洲) 人用药品委员会
CPMP	(欧洲) 专利药品委员会
EMA, EMEA	欧洲药品管理局, 原名 EMEA
EP	欧洲药典
EU	欧盟
EWG	(ICH) 专家工作组
FDA	食品和药品管理局
ICH	国际协调会议
JP	日本药典
NOEL	未观察到作用的剂量
PDE	每日允许暴露量
PGI	潜在遗传毒性杂质
PhRMA	药品研究和生产商协会
SAR	构效关系
SWP	安全工作组
TTC	毒理学关注阈值
USP	美国药典

本培训指南旨在为质量保证和业务部门的管理者及员工提供遗传毒性相关法规要求的概览，以及执行中的一些建议。同时，本指南中还综述了一些相关的分析仪器，并引述了一些可证明其可行性的宝贵学术论文。

美国食品药品监督管理局 (FDA)，以及一些同等的国际医疗卫生机构，要求必须严格控制药品中的有害杂质，并将其降低到规定限量之下。遗传毒素是一类极富挑战性的杂质，并已被证明即使在低浓度条件下依然具有毒性，因此监管机构特别指定了它们在原料药和成品药中的限量。但是，由于最初缺乏完整的监管指南，并且制定法规的机构随时间不断变化，因此这些法规中或多或少存在一些不一致的要求。为了及早处理这些重要杂质，业内专家还制定了一些意见书，以替代详细监管指南，弥补其缺失。这些文件具有重要意义，因为其中包含了一些在随后的监管指南中得以实施的概念，并且时至今日依然作为最佳方法而得以应用。因此，制定精准、最新的遗传毒性杂质监管指南会是个十分复杂的过程，且需要本文件汇编的法规。

此外，由于规定水平内遗传毒性杂质的分析表征对分析仪器和方法要求极为严苛，所以世界各地的科学家都在试图开发不同样品基质中各种遗传毒性杂质的分析程序。众多实验的结果已发表在多种期刊中，并且也得益于本文汇编的法规。

本基础导论中表达的概念和观点均基于我们的个人经验，并不反映正式的公司政策。就我们所知，本基础导论中的信息在其印刷时正确无误。同时，我们建议所有读者及时查阅官方法规网站及其它可靠来源，以获取最新信息。

虽然法规和指南通常在很长时间内不会有明显变动，但是其解释、检查和执行中的实践经验时常变化，所以需要定期监控。例如，欧洲药品管理局 (EMA) 出版了有关遗传毒性杂质常见问题的解答，而国际协调会议 (ICH) 建立了一个专家工作组，旨在制订一份题为“评估及控制药物中的 DNA（致突变）杂质以限制潜在的致癌风险”的指南。该 ICH 出版物计划阐明悬而未决的行业问题，并很可能替代 EMA 及 FDA 的现行指南。

以下列举了一些定期更新的常规杂质及专门的遗传毒性杂质相关法规的网站：

生物制药行业的法规和指南

<http://www.fda.gov>

欧洲药品管理局

<http://www.ema.europa.eu/>

人用药品注册技术要求国际协调会议

<http://www.ich.org>

来自遗传毒性杂质相关法规机构及行业实践的参考文献与持续更新

<http://www.labcompliance.com/info/links/impurities/genotoxins>

作者

Ludwig Huber 博士

Labcompliance 全球 FDA 法规认证首席顾问

ludwig_huber@labcompliance.com

Ravikrishna Chebolu 博士

安捷伦科技， 制药市场经理

ravikrishna_chebolu@agilent.com

药品中的杂质

药品中的杂质定义为无任何疗效，且可能引起副作用的物质。因此，必须控制杂质水平，以确保药品的安全性达到人用要求。

杂质会影响药品的安全性和研发时间，以及后期的销售和推广。例如，药物开发中，如果必须采用多种手段进行杂质表征，并将其去除至可接受水平，所需的时间将会显著增加。在一些实例中，遗传毒性物质污染导致的药品召回，都严重影响了药品的市场化进程。

根据 ICH 指南，原料药相关的杂质可分为三个主要类别：有机杂质、无机（元素）杂质以及残留溶剂。在这三类中，遗传毒性杂质是一种特例，其有着重大的安全风险，甚至是在低浓度条件下，这是因为它们可能具有致突变性，从而可能损伤 DNA。因此可以导致突变或引发癌症。

关于遗传毒素和遗传毒性的定义已有许多的论述。根据本基础导论的目的，我们以 ICH S2 (R1) 指南 1 为参考，其中遗传毒性定义为“一个广泛的术语，指的是遗传物质中的任意有害变化，而不考虑诱发该变化的机制”。而遗传毒性杂质定义为“经过适当遗传毒性试验模型，例如，细菌基因突变 (Ames) 试验，证实具有遗传毒性的杂质”。潜在遗传毒性杂质 (PGI) 定义为“具有遗传毒性警示结构的杂质，但并未经实验测试模型验证。这里的潜在性指的是遗传毒性的潜在性，而非杂质存在的潜在性”。²⁰

本基础导论的内容

本基础导论的第 1 章除了提供内容概览之外，还综述了由个人作者发表的关于监管要求和分析测试的文献。第 2 章将会综述杂质相关法规，然后讨论遗传毒性杂质有关的具体指南。其中还阐述了在开发和生产质量控制中，监管机构对实验室测试监管样品（例如遗传毒性杂质）的期望。第 3 章根据 EMA 和 FDA 指南提供了一些执行建议。第 4 章总结了遗传毒性杂质的分析技术。

本基础导论的目的是综述遗传毒性杂质相关的法规和分析，除此之外，读者还可从很多其它资源中获知该主题的更多细节。这些资源来自于监管机构、联合行业/机构特别工作组以及个人作者。监管文件及其它官方文件将在下一章中进行讨论。来源于个人作者的文献发表在期刊、网站和教科书中，可通过标准渠道获取。本章的剩余部分综述了一些选定的重要资源，由个人作者或机构以传统期刊文献或教科书的形式发表。这些出版物可分为三类：

- 遗传毒性杂质的监管及控制
- 检测实验室的合规性
- 遗传毒性杂质的分析仪器及程序

监管及控制

Kirkland 和 Snodin² 报道了早期遗传毒性杂质监管的发展，讨论了由欧盟专利药品委员会 (CPMP) 安全工作组 (SWP) 于 2002 年出版的*遗传毒性杂质限度意见书*中的内容。

Müller 等³ 在 2006 年发表的文章可能是关于遗传毒性杂质分析最重要的一篇文献。这篇文章由药品研究和生产商协会 (PhRMA) 的一个专家组发表，其中描述了一些测定、检测和控制潜在遗传毒性杂质的原创性方法。更多细节请阅读本基础导论的第 2 章。

Robinson⁴ 提出了一些遵守监管指南的控制策略，并对每种方法进行举例说明：

- 重新设计原料药合成途径，以避免引入有问题的杂质
- 修改相关工艺参数，以去除此类杂质或将其降低至不显著的水平
- 加深工艺理解，以证明特定的遗传毒性杂质不会生成或可被有效去除
- 进行毒性研究，以论证可疑杂质在设定的低浓度下不具有危害性

Snodin 和 Elder⁵ 综述了遗传毒性杂质。最有用的是 ICH M7 的一个更新版本，是 ICH 专家工作组正在制定的一本关于药物中 DNA 反应性杂质的指南。更多细节请阅读本基础导论的第 2 章。

遗传毒性杂质的分析

一些综述文章中罗列了涉及不同仪器的分析方法。以下列出了其中的一些重要文章：

Liu 及他的同事⁶ 报道了关于药物中遗传毒性杂质痕量分析的研究进展。这篇文章从行业角度阐述了化学品开发中经常遇到的不同结构类型遗传毒性杂质的分析。

Elder、Snodin 以及 Teasdale⁷ 描述了活性药物成分 (API) 和药品中肼类、酰肼类和腈类遗传毒性杂质的分析。尤其值得注意的是其中使用了多种技术，包括色谱和光谱，且样品大都进行了衍生化处理。如此多的选择拓宽了分析人员的选择范围，使他们可选择最合适的技术满足其分析要求。

Elder 及他的同事⁸ 报道了 API 中苄基卤类及其它相关活性有机卤化物等潜在遗传毒性杂质的分析。文章根据分离技术进行了分类，包括配有不同检测器（质谱等）的气相色谱和高效液相色谱，以及薄层色谱和毛细管电泳。

安捷伦科技已出版了一本 30 页的关于药物杂质分析解决方案的基础导论。⁹ 其中一章的应用实例包含有遗传毒性杂质分析。

检测实验室的合规性

在 FDA 及同等国际法规环境下工作的分析实验室需遵守正式的监管要求，例如分析仪器认证，以及分析方法验证。本节列出了两个最重要的法规参考文件，并重点介绍了一些与其相关的手册。

- 分析仪器认证的标准参考文件：USP 第 <1058> 章¹⁰
- 分析程序验证的全球标准：ICH Q2 (R1)¹¹

安捷伦科技已出版了多本关于监管要求及其执行建议的基础导论：

- *生物制药实验室法规认证*¹² 覆盖了从取样到报告生成和数据存档的所有步骤
- *分析仪器认证和系统验证*¹³ 以认证计划到报告生成过程的实例，详述了其中的必需步骤
- *分析方法验证*¹⁴ 罗列了遵循 ICH 指南 Q2 (R1) 的要求、步骤和执行建议

ICH 杂质方法——指南和分类

原料药及成品药中的杂质具有潜在毒性，会有损患者利益。原料药中的杂质来源包括以下几个方面：

- 原料及其污染物
- 试剂和催化剂
- 溶剂
- 中间体
- 赋形剂及其污染物
- 溶出物
- 降解产物

为保护患者，需要将药物的杂质水平降低到可接受的安全限度内。现行的一些监管指南和意见书中，专注于利用规定限度控制药品中的杂质含量。

杂质指南主要由国际协调会议 (ICH) 制定。例如，ICH Q3A¹⁵ 通过制定杂质的报告、鉴定和认证阈值，以监管新原料药中的杂质。ICH Q3B¹⁶ 是其同等的新药杂质指南。

ICH Q3C¹⁷ 控制残留溶剂，且是 ICH 首次利用物质特异的限量来控制残留溶剂。根据残留溶剂对人体健康潜在风险的不同，将其分为三类。I 类的溶剂应该避免使用，II 类的溶剂可在每日允许暴露限度范围内使用，III 类的溶剂在每日暴露量 ≤50 mg 内无基于健康的暴露限量。

ICH Q3D 目前正在制定中，将包括重金属杂质的元素和限量。当前的草案将规定成品药中的具体元素限量及每日允许暴露限量。

现行的 ICH 杂质限量指南不适用于大多数遗传毒性杂质。一个与遗传毒性杂质特定相关的问题是，原料药合成经常需要使用反应性物质，而这些物质（即使在极低的水平下）能与人类 DNA 相互作用从而导致突变和癌症。因此，需要避免遗传毒性杂质，如果不可避免，也要降低其水平至规定限度以下。业界和监管机构的不同组织已制定了特别针对遗传毒性杂质的指南。本章后续内容将讨论相关指南，首先表 1 中综述了一些最重要的相关指南。

表 1. 遗传毒性杂质指南：控制，检验和风险评估

主要内容	标题
遗传毒性杂质控制指南	PhRMA 意见书：测定、检验和控制药物中特定潜在遗传毒性杂质的基本原理 (2006)。 ³ 介绍一些重要概念，例如五种杂质分类以及短期暴露的分期杂质阈值
	EMA：遗传毒性杂质限度指南。 ¹⁹ 2002 和 2004 年发布了一些咨询草案，2006 年发布了最终版本。连同相关的 Q & A 文件， ²⁰ 成为了最完善的法规文件。并且它还引入了毒理学关注阈值 (TTC) 的概念及其取值
	EMA，安全工作组 (SWP)：关于遗传毒性杂质限量指南的问答， ²⁰ 出版于 2008、2009、2010 和 2012 年
	FDA 行业指南（草案）：原料药和成品药中遗传毒性和致癌性杂质：推荐方法 (2008)。 ²² 基本与 EMA 指南一致
	ICH M7：评估和控制药物中的 DNA 反应性（致突变性）杂质以限制潜在的致癌风险，商业计划书 (2010)，意见书。 ¹⁸ 该文件正在制定中，可能会取代现行的 EMA 和 FDA 指南
遗传毒性试验指南	ICH S2：人用药物的遗传毒性试验和数据解释。 ¹ 该文件结合了之前的 ICH S2A (1996) 和 ICH S2B (2007) 指南，是遗传毒性试验的全局文件
	EMA：草药物质/制剂遗传毒性评估指南 (2008)。 ²¹ 该指南描述了检验草药物质/制剂潜在遗传毒性的总体框架和实践方法，以及如何解释结果
遗传毒性和致癌性物质的风险评估	欧盟委员会健康与消费者保护局：遗传毒性和致癌性物质一般风险评估的方法学和途径 (2009)。 ²³

PhRMA 意见书

制药行业对遗传毒性杂质限度及官方指南缺位现状的认识，再加上遗传毒素的相关 FDA 检查和执行实践的开始，都促使了该行业的通力协作。2004 年 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》(Regulatory Toxicology and Pharmacology) 杂志中，题为测定、检验和控制药物中特定潜在遗传毒性杂质的基本原理 (2006)。³

由于这份意见书的制定和 EMA 相关官方指南的制定举措同时进行，结果导致方法有部分重叠。例如，PhRMA 文件使用了 EMA 草案中毒理学关注阈值 (TTC) 的概念，而 EMA 最终版指南中推荐了由 PhRMA 工作小组提出的分期 TTC 方法。这两个概念将在本指南中随后进行讨论。两个文件间的一个关键差别是它们在实施方面的侧重不同，在官方法规指南 EMA 文件中的实施细则则要比 PhRMA 文件少。总之，这两个文件在方法和侧重点上互为补充。

PhRMA 文件引入了两个重要的创新理念：

1. 遗传毒性杂质的五级分类系统

第 1 类

已知具遗传毒性（致突变性）和致癌性的杂质。本类包括已知的动物致癌物和人类致癌物，其遗传毒性机制有可靠数据支持。杂质的遗传毒性本质可由已发表的化学结构数据加以证明。

第 2 类

已知具有遗传毒性（致突变性）的杂质，但未知其是否具有致癌可能性。本类包括基于常规遗传毒性试验证实有致突变性的杂质。

第 3 类

含有警示结构的杂质，但与 API 结构无关，且未知其是否具有潜在遗传毒性（致突变性）。本类包括功能基团结构与遗传毒性相关的杂质。然而，这些基团还未作为单独化合物进行检验，而是基于其化学结构和使用基于知识的构效关系 (SAR) 专家系统对其进行鉴定。

第 4 类

含有与 API 相关的警示结构，以及含有与 API 结构相同的警示功能基团的杂质。

第 5 类

无警示结构或未表现潜在遗传毒性。

基于该分类系统，该文件提出了一个杂质评估策略。迄今为止，这项策略已基本上成为业内大多遗传毒性杂质相关风险评估的标准。文件中根据五分类模型，提出了改编 ICH 杂质认证方法的建议。该建议可以分三步实施，如表 2 所示。

表 2. 实施五分类杂质模型

步骤	举措	备注
1	在母化合物和预期杂质中鉴定警示结构，并将杂质按五分类法分类	这需要科学审视合成路径以识别可能引起担忧的化合物，包括工艺杂质、试剂和中间体
2	根据分类建立不同的杂质认证策略。确定药品中每个杂质的潜在遗传毒性或建立允许的指标限量	致癌可能性的信息来源于文献，由遗传毒性试验的实验数据所得，例如 Ames 试验。文件中对每个类型的认证均作了详细的说明
3	建立基于每日允许摄入量 (ADI) 和 TTC 概念（见下文）的杂质限量	原料药和成品药中可接受含量的测定是基于认证和风险评估

2. 临床试验材料的分期 TTC概念

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。根本原因在于临床试验的用药持续时间有限，且总体暴露量相对较低。初始 TTC 保守的风险评估意味着该方法对绝大多数物质（强致癌物除外）具有很高的安全系数。分期 TTC 值应适用于开发中的所有阶段以及每一个化合物，以防多种遗传毒性杂质同时存在。这个概念的一个例外是强效致癌物。

两个概念的引入旨在为行业在新药开发阶段提供一些灵活性和风险减轻策略。同时，分期 TTC 方法也是 EMA 和 FDA 遗传毒性杂质指南的一个基本要素。^{19, 20, 22}

EMA 指南

EMA 作为监管机构先驱，推行了处理遗传毒性杂质的详细指南。制定草案的任务由专利药品委员会 (CPMP)——如今称为人用药品委员会 (CHMP) 的安全工作组 (SWG) 承担。SWG 委员会认为具有潜在遗传毒性的杂质是一个特例，没有涵盖在 Q3A 和 Q3B 指南中，因此想要弥补 ICH 指南中杂质控制部分的空缺，特别是针对那些可能异常强效的潜在杂质，例如潜在遗传毒性杂质。委员会建议在 ICH 限度中加入基于风险的安全因素，这与 Q3C 中使用的残留溶剂方法类似。为征询公众意见，在 2002 年发表第一版草案，标题为*遗传毒性杂质限度意见书*，并在 2004 年发表完整版。从这次发表以后，欧洲药品管理局的官方缩略名由 EMEA 变更给 EMA。为保持一致性，我们在本基础导论使用现行的缩略名。

2006 年 6 月，EMA 的 CHMP 发布了*遗传毒性杂质限量指南*的最终版。CHMP 安全工作组发布了一些问答文件进一步解释说明，极大地完善了该指南。²⁰ 文件适用于新原料药中的遗传毒性杂质。它也适用于一些现有活性物质的新应用，在这些应用中，与已获得授权的含有相同活性物质的产品相比，其合成路线、工艺控制和杂质分析的评估不能合理保证未引入新的或更高水平的遗传毒性杂质。在目前的情况下，将一个化合物归类为遗传毒性物质，一般意味着以可能直接损伤 DNA 的 DNA 反应性物质为重点的体外或体内遗传毒性试验，得出了阳性结果。并在充分的后续试验中，评估了独立的体外试验结果与体内试验结果的关联性。

指南建议将遗传毒性杂质分为“具有充分（试验）证据证明其阈值相关机理”的杂质和“无充分（试验）证据证明其阈值相关机理”的杂质。并建议将相关实验限定于特定杂质，这些杂质基于化学反应知识、分子结构、原材料中的杂质类型和含量，以及现有的遗传毒性数据，可合理预测其具有遗传毒性。

具有充分证据证明其阈值相关机理的遗传毒性杂质将按照 ICH Q3C (R3) 中的 2 类溶剂的方法进行处理。该方法计算“每日允许暴露量”，根据最相关动物研究中的“未观察到作用的剂量”或替代性的“观察到最低作用的剂量”，并结合多种不定因素所得。

药物评价和控制策略

对于无充分证据证明其阈值相关机理的潜在遗传毒性杂质，指南中引入了将杂质水平控制在“最低合理可行” (ALARP) 水平的概念。ALARP 方法中明确指出在原料药合成中应竭尽全力防止这些杂质生成，如果不可能，应该在合成后采取相应的技术手段减少杂质。药物评价后认为符合 ALARP 原则的剂量，还应从毒理学角度评估其可接受性。

进行药物评价和实施控制策略的目的是依照 ALARP 原则控制杂质水平。首先应关注的是避免遗传毒性杂质出现在原料药中。EMA 希望药品开发者在原料药合成或成品药生产过程中尽一切可能努力避免遗传毒性或致癌性化合物的生成。

需要根据现有的配方选择和技术，提供证明所选的配方/生产策略合理性的证据。申请人应该在活性物质的合成工艺和杂质谱部分重点指出已知具有遗传毒性和/或致癌性的所有化学物质，包括用到的试剂、中间体、副产物。更一般地说，虽然有些反应性物质和从遗传毒性角度具有警示结构的物质与最终活性物质并没有共同结构，但也要考虑它们的遗传毒性。如果有可能，应该对它们进行一些替代研究，以使最终产品中不会引入遗传毒性残留。

如果没有可行的替代方法，需要提供充分的论证，包括尝试替代的合成路线或配方，不同的起始物料等。然而，监管机构意识到在许多情况下，完全防止所关注杂质的生成是不可能的。

如果遗传毒性杂质的生成不可避免，则应该采取适当的措施（如纯化步骤）降低原料药或成品药中杂质的含量，以满足安全性要求，或符合“合理可行的最低限量”原则。

毒理学和风险评估

如果遗传毒性杂质的生成不可避免，或者不能完全去除杂质，指南建议进行风险评估，比如估算一个“每日最大暴露量”值，低于该暴露量时就可以忽略其对人体健康的风险。理想情况下，这些方法必须有足够多的长期致癌性研究数据的支持。而大多数情况下，遗传毒性杂质的毒理学评估只是局限于杂质的体外研究（如 Ames 试验或染色体畸变试验），因此这些方法并不适用于确定杂质可接受的摄入水平。

根据体外数据（如 Ames 试验）计算杂质的“安全倍数”进而确定可接受的限度，是不合适的。此外，用含有较低 (ppm 级) 杂质水平的原料药研究其致癌性和遗传毒性，即使得出阴性结果也不足以确保该杂质限度的合理性，因为这种试验方法灵敏度不足。即使具有很强致突变性和致癌性的物质与原料药一起检测时（即非常低的暴露水平），很有可能因为低于检测限而无法检出。

所以，需要一种实用的方法来控制与“不可接受的风险”无关的含量非常低的遗传毒性杂质。指南建议使用毒理学关注阈值 (TTC) 控制遗传毒性杂质，该方法由 PhRMA 工作小组报告提出。³ TTC 指的是不具显著致癌性或其他毒性作用的化合物暴露阈值水平。除了少量强遗传毒性化合物外，将 TTC 设定为每日 1.5 µg 摄入量即可。该阈值相当于增加十万分之一的患癌风险，相较药物带来的益处，EMA 认为这种风险水平是合理的。指南指出，基于遗传毒性结果分析的充分论证，某些情况下 TTC 值高于 1.5 µg/日也是可以接受的，如预期用药时间较短；用于治疗威胁生命的疾病；或人的预期存活期少于 5 年。Q & A 文件²⁰中列出了临床试验中不同暴露时间的推荐 TTC 水平表。暴露时间为 6-12 月，3-6 月，1-3 月和少于 1 个月的日摄入量可接受限度分别为 5、10、20 和 60 µg/天。

有几个结构基团被认定为具有非常高的遗传毒性，即使摄取量低于 TTC，也存在显著致癌风险的可能。这些强遗传毒性致癌物质包括黄曲霉素类、N-亚硝基物和偶氮类化合物，不适用 TTC 方法。这类化合物的风险评估需要有特定化合物的毒性数据。这类遗传毒性物质的风险评估方法已在欧盟委员会健康与消费者保护局发表的一篇题为*遗传毒性和致癌物质一般风险评估的方法学和途径*²³的文章中有详细描述，因此在本基础导论中不再进一步讨论。

EMA 草药物质的遗传毒性评估指南

2008 年，EMA 发布了*草药物质/制剂的遗传毒性评估指南*。²¹ 该指南描述了检验草药物质和制剂中潜在遗传毒性的总体框架、实践途径和结果解释。指南包括一些特定制剂的危害与风险评估经验，例如*当归制剂*中呋喃香豆素类，或草药制剂中细辛脑、丁香油酚甲醚和黄樟脑的遗传毒性风险评估。

指南指出，由于第一步中的单个试验即 Ames 试验不能覆盖所有的遗传毒性端点，因此依然检验不出所有显著潜在遗传毒性（例如与染色体损伤相关）。然而，体外细菌回复突变试验体系有可能覆盖大部分关键端点，即 DNA 反应性的草药物质。指南中描述的逐步式方法非常实用，在目前适用于草药类药物 (HMP) 的监管框架内，既能解决遗传毒性试验的科学问题，也能满足该类药物监管的特殊需要。

FDA 指南草案

2008 年 12 月，美国 FDA 发布了行业指南草案，题为：*原料药和成品药中的遗传毒性和致癌性杂质——推荐方法*。²² 自此以后，该指南最终版一直没有出版，可能会被即将公布的 ICH M7 指南所替代。FDA 指南针对已知或可疑的潜在遗传毒性和致癌杂质的安全认证提供了具体建议。指南描述了许多用以表征及减少患者暴露于遗传毒素和致癌性杂质导致的潜在癌症风险的方法。这些方法与 EMA 指南相似，包括三个步骤，如表 3 所示。

表 3. 表征和最小化风险的 FDA 指导步骤

步骤	措施
1	改变合成和/或纯化路线，使相关杂质生成最少，和/或最大程度去除相关杂质
2	将相关杂质的日最大暴露指标 1.5 µg 作为总体目标
3	进一步表征遗传毒性和致癌性风险，以更好地支持适当的杂质限量指标，无论是上限值还是下限值

FDA 指南使用与 EMA 指南相同或相似的方法；但是，它们也有一些关键区别。表 4 展示了一些关键异同点的比较。

表 4. FDA 和 EMA 指南的比较

相似点	不同点
推荐的鉴定和认证潜在遗传毒性杂质的方法相同。 推荐的处理遗传毒性和致癌性杂质的方法相同	FDA 指南包含致癌性杂质
TTC 设定为 1.5 µg/天	指南允许的 14 天内用药的 TTC 水平为 120 µg，而非仅针对单次用药。
临床试验中短期暴露的 TTC 更高	FDA 指南不允许根据现售药品的短期暴露情况而提高 TTC

ICH M7 展望

目前 ICH 正在制定指南 M7，题为：*评估及控制 DNA 反应性（致突变性）杂质*。事前资料和实施计划表可在商业计划书和概念文件中找到。¹⁸ 作为一个 ICH 指南，它将覆盖比现行 EMA 和 FDA 指南更广的地理范围。此外，它还将解决 FDA 和 EMA 指南间的不一致性，并阐明业内目前讨论的其他问题，例如怎样处理具有相似作用机理的多种结构相关的遗传毒性杂质，以及在计算 TTC 时是否应对它们求和。

首届 ICH 专家工作组 (EWG) 会议于 2010 年在日本福冈举行。根据 Snodi 和 Elder⁵ 报道的关于 2010 年 11 月发布的 ICH 步骤 1 工作草案，可知其通则与现行的 EMA 指南相似，特别是警示结构、Ames 试验、TTC 概念的应用及风险评估的相关部分。

遵照 ICH S2 (R1) 进行遗传毒性试验

药品遗传毒性试验的全局指南为 ICH 指南 S2 (R1)¹，题为*人用药物的遗传毒性试验和数据解释*。它结合了之前发布的两个指南，即 S2A：药物遗传毒性试验的特殊性指导原则及 S2B：遗传毒性：药物遗传毒性试验的标准组合。该指南专注于测试新型小分子原料药；它并不适用于生物制剂。

该指南可分为五个部分：

- 部分 I 中详细说明了指南的适用范围，并包括了遗传毒性试验的定义和通则。遗传毒性试验定义为：用于检测能以各种机制引起遗传损伤的化合物的体外和体内试验。这些试验能够鉴定 DNA 损伤及其固定形式相关的危害。以基因突变形式出现的固定 DNA 损伤，大范围的染色体损伤，或重组一般被认为是遗传效应的必要因素，而在恶性肿瘤的多级过程中，遗传变化可能只是其复杂过程中的一部分

- 部分 II 中描述了原料药试验的标准组合，包括细菌中的基因突变试验，以及体内和体外试验
- 部分 III 到 V 中阐述了体外试验、体内试验及试验结果评估的具体建议。这些部分中还描述了后续的试验策略

实验室法规要求

制药实验室中可靠、精确的数据测定十分重要，以确保唯有安全有效的药物才能被授权进行市场营销，以及成品发布出库。因此，药物开发和 QC 实验室必须遵守 FDA 和同等国际法规以确保数据质量。本节综述了制药实验室的法规要求。更多细节请参阅文献 12。原则上本章中列出的要求可应用到开发和生产中的每个时期，虽然从临床前研究到成品药 QC 实验室间执行的要求是递增的。例如，在临床 I 期中，可能只需创建一个文档说明为什么所用的分析方法适合预期用途；而在 III 期中，所有的陈述必须有实验支持。本章中列出的所有要求在 GMP 环境下应该履行，虽然在早期这可能不一定必要。

实验室要求可分为两类：

- **一般质量体系要求**
适用于一个公司内所有的受监管活动，例如，文档控制、内部审计以及人员资质认定。一般称之为质量体系要求。
- **实验室特定要求**
适用于一个实验室的特定情况；例如，分析方法的认证、取样以及检验报告的审核批准。

合规要求概览

法规对一个制药实验室的整体影响可通过图 1 进行很好的阐释，其中展示了整体样品/数据工作流程。图上部展示的是适用于监管实验室的一般质量保证要求。而图下部展示了一个典型的实验室样品和试验数据的工作流程，以及关键要求。中间部分则展示了适用于整个样品或数据工作流程的要求。

制药实验室层面的合规要求

非冲突性组织架构、文档控制、投诉处理、纠正和预防措施、供应商和分包商管理、内部审核，及人员资质认定。

所有工作流程步骤的合规要求

分析方法和程序验证 仪器校正测试和维护 受控的环境条件

样品和数据工作流程的合规要求

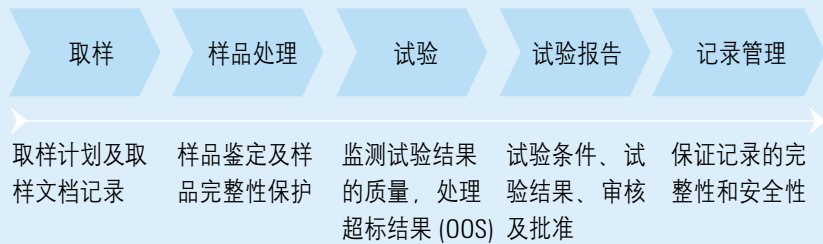


图 1. 生物制药实验室的合规要求

遗传毒性杂质分析的注意事项

- 根据遗传毒性杂质分析的特性及相关杂质指南的特殊需求，实验室需要特别注意样品处理和制备过程，因为遗传毒性物质本质上为反应性化合物
- 分析方法和程序认证的全局标准是 ICH Q2 (R1)¹¹。其中包含推荐的试验参数及验收准则。对遗传毒性杂质的分析方法进行验证时，需要特别注意特殊要求和环境。例如，验收准则应适合于 EMA 和 FDA 指南中所定义的要求，而这些要求均低于现行的 ICH 杂质指南。我们还建议需要特别注意选择性试验。因为微量的杂质可能会被大量的 API 掩盖

本章中，我们为执行前面章节提及的 EMA、FDA 和 PhRMA 工作小组的要求提供了一些建议。实际运用的任务是控制原料药和成品药中的遗传毒性杂质，以支持市场化应用。

我们已确认了四个主要阶段，分别标记为 A 至 D，其中每个阶段均由一些关键步骤组成。

A. 鉴定及追踪具有充分证据证明其阈值相关遗传毒性机理的遗传毒性杂质

为此，首先需要回顾其合成路线，并利用遗传毒性数据或警示结构存在与否鉴定 PGI。而 TTC 则是风险评估的最终决策依据。图 2 中展示了评估和处理潜在遗传毒性杂质的推荐步骤。

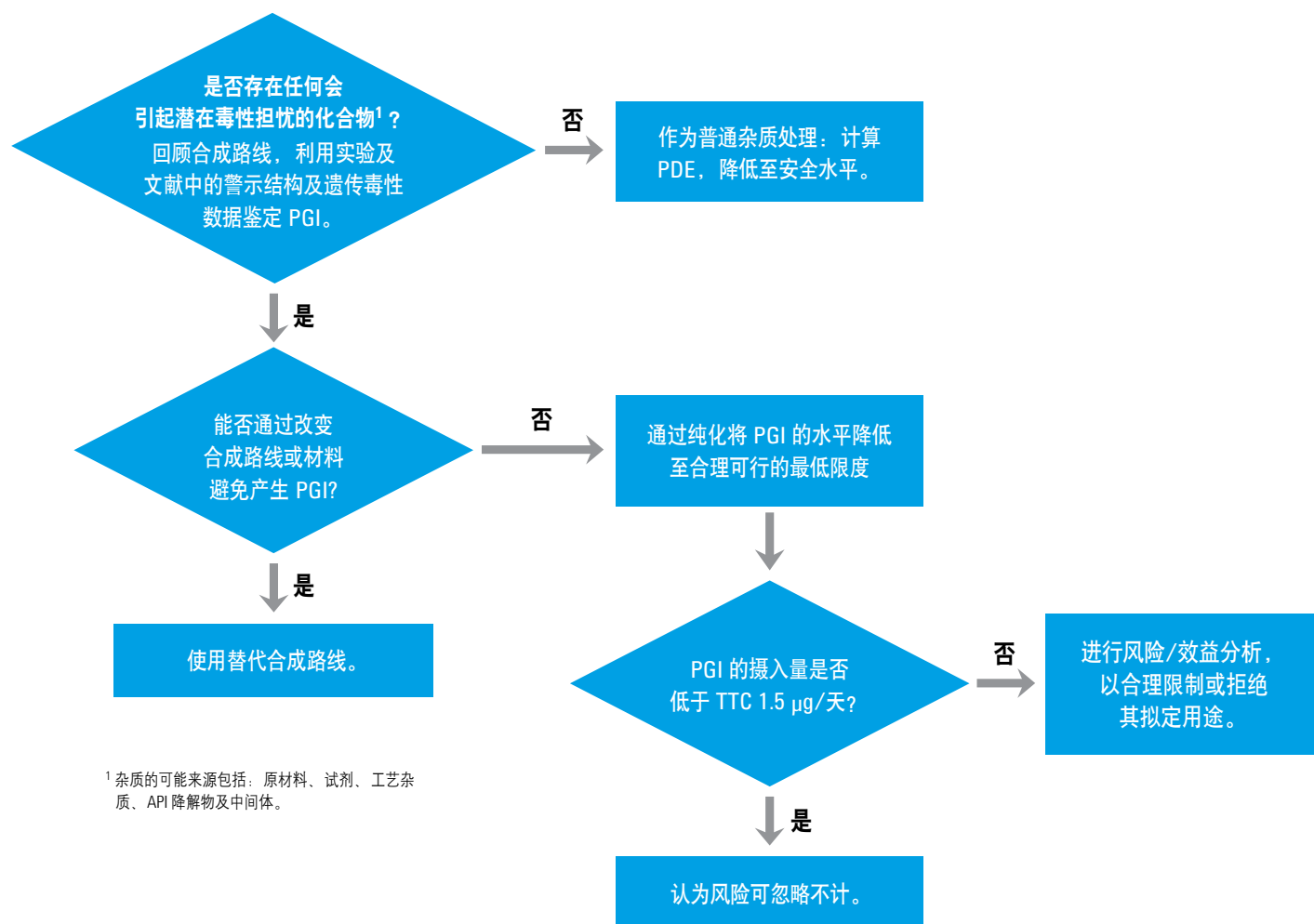


图 2. 评估遗传毒性杂质可接受性的决策树图（改编自文献 19 及 22）

B. 确认临床试验中短期用药的每日允许摄入量

FDA 和 EMA 均允许在临床试验研究阶段灵活运用所描述的 TTC，这是因为临床试验的持续时间变化范围很大，可从短期单次用药到多年多次用药，而市场化应用所需的质控阈值是基于终身风险估计得出的。下面列出了确认每日允许摄入量的推荐步骤：

- 1. 研究 EMA²⁰ 及 FDA²² 指南中的相关表格
- 2. 建立不同暴露时间的杂质阈值表，如表 5 所示

表 5. 杂质阈值与暴露时间关系表

暴露时间	< 14 天	14 天至 1 个月	1 至 3 个月	3 至 6 个月	6 至 12 个月	> 12 个月
杂质阈值	120 µg/天	60 µg/天	20 µg/天	10 µg/天	5 µg/天	1.5 µg/天

注：对于 EMA，允许摄入量 120 µg/天只适用于单次用药。

C. 开发一种程序以使用比官方推荐值更高和更低的阈值

EMA 和 FDA 均允许在特定环境下灵活运用 TTC。在一些情况下，若对患者有药效，则验收标准高于推荐阈值可能得到支持。在另外一些情况下，例如当存在高效致癌物质时，应当降低相关阈值。下面列出了灵活运用该方法的推荐步骤：

- 1. 开发一种特定程序以灵活应用方法
- 2. 结合实例提出清晰的标准以决定何时可灵活应用方法
- 3. 利用风险评估以证明高于推荐阈值的合理性

D. (可选的) 将 A 期中鉴定的杂质进行分类，并分别为每类建立认证策略

这种程序已由 PhRMA 工作小组推荐使用。³ 通过查阅文献数据或遗传毒性试验所得结果及比较结构分析鉴定化学功能基团与遗传毒性的相关性，将杂质归为五类之一。推荐的步骤为：

- 1. 将遗传毒性杂质分别归入表 6 描述的五种类型之一
- 2. 证明分类的合理性，例如，描述文献评价结果、遗传毒性试验及可能的结构警示
- 3. 根据表 6 的分类建立杂质认证策略
- 4. 记录实验细节，以及认证结果和结论

表 6. 杂质类型

类型	特征	认证策略
1	已知具有毒性（致突变性）和致癌性的杂质	去除杂质。如不可能，则建立基于分期 TTC 概念的 ADI 限量指标
2	已知具有毒性（致突变性）和致癌性的杂质，但未知其是否具有致癌可能性	如果已建立阈值相关机理，则实施 PDE 方法。如果未建立阈值相关机理，则根据 TTC 定义每日允许摄入量
3	含有警示结构，与 API 及未知的潜在遗传毒性（致突变性）结构无关	根据 TTC 演算出潜在的每日允许摄入量。测试杂质的 DNA 直接反应性，之后归入第 2 或第 5 类
4	含有与 API 母体相关的警示结构	测试 API 的遗传毒性，如结果为阴性，将其定为普通杂质
5	无警示结构或有充分证据证明无遗传毒性	根据普通杂质指南建立限量指标

分析挑战

分析遗传毒性杂质极具挑战性，是因为它们必须被控制在远低于 0.01–0.03 % 的水平上。理想情况下，分析程序的检测限应当达到 1 至 5 ppm (0.0001–0.0005 %，重量比)。如此低水平的检测限不仅要求有更灵敏的分析仪器，而且还要求有更高的特异性，是因为在低浓度范围内可能存在更多其它有机杂质，例如来自辅料的杂质。较大量的 API 也可能会干扰低水平杂质分析。

此外，单一分析程序很难分析所有遗传毒性杂质，这是由于它们含有多种不同功能基团，并有不同的来源。另外，由于遗传毒性杂质的反应性，增加了取样的难度，并需要采取特别预防措施以保证分析物的完整性。由于所研究的杂质很容易在提取，或样品前处理和分析过程中发生反应，所以会人为地导致结果过低、不准确、多变。并且一些遗传毒性杂质为低分子量化合物，极具挥发性，因此它们可能在样品前处理步骤和取样过程中消失。

在药物开发周期的早期，就应对分析技术和程序进行仔细调查研究以确保其正确性。其中，需要根据所研究遗传毒性杂质的特性和含量选择合适的分析技术（或联用分析技术），见图 3。开发周期早期的方法评估应有助于提高毒性和临床研究的有效性，并有助于获取有关方法性能、稳健性及合理验收标准方面的经验，所有这些作为新药注册和生产控制中所记录的方法验证证据，均具有重要作用。

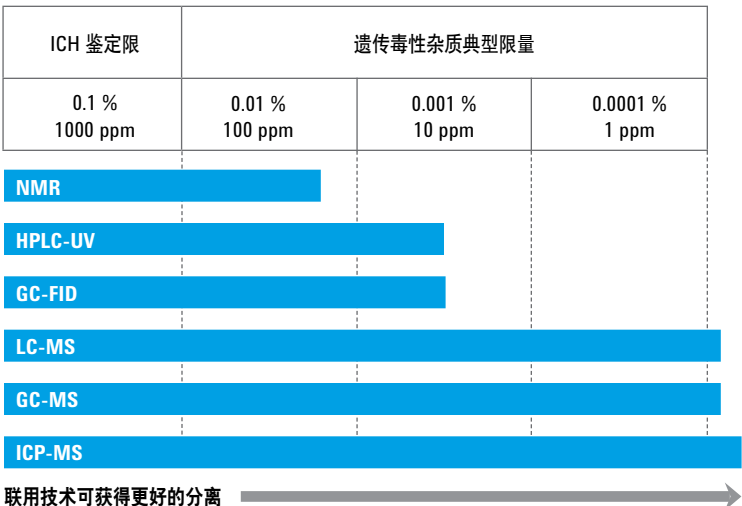


图 3. 更低的遗传毒性杂质检测限需要更复杂的分析技术进行定量²⁹

HPLC（配有 UV/Vis 检测器）及 GC（配有 FID 检测器）是过去最常用的遗传毒性杂质分析技术。而近来，质谱检测器正在被越来越多的使用，以获得更高的灵敏度和特异性。

本章的剩余内容综述了遗传毒性杂质分析中的不同技术。每种分析技术均配有一些出版物作为参考，其中包括具体实例的相关实验和数据。此外，文献 5 到 9 可作为全面的综述。文献 25 中展示了一张流程图，有助于根据所评估分析物的特性选择正确的色谱方法。

高效液相色谱 (HPLC)

HPLC 是一种最常用的非挥发性遗传毒性杂质分析技术，这是由于其易用性和仪器的低成本，并且由于分析人员通常对相应的仪器和方法学均较为熟悉。配备更小粒径色谱柱的高性能 HPLC 可显著减少分析时间。

Agilent 1200 Infinity 系列液相色谱系统可为潜在遗传毒性杂质 (PGI) 的综合分析提供必需的速度、分离度、灵活性和灵敏度。1200 Infinity 系列的广泛能力范围使其可适应任何粒径、色谱柱尺寸或流动/固定相，而其创新部件可为 UHPLC、RPLC 及 HPLC 应用提供更高的性能水平。⁹

创新性的 Agilent 最大光强卡套式流通池可最优化 PGI 的超灵敏度检测，其 60 mm 长的光程可实现更低的检测限和更高的灵敏度。⁴⁰

1200 Infinity 系列高动态范围 DAD 解决方案可提供 30 倍宽的线性 UV 范围以扩展检测能力，并可在单次分析中实现所有样品成分的定量，使其成为测定活性药物成分中低水平遗传毒性杂质的最理想仪器。³³

多种方法和方法开发解决方案可帮助减少重复性工作。安捷伦自动化色谱柱和流动相筛选系统，以及方法探索向导软件，使您可通过一键式操作，



Agilent 1200 Infinity 系列液相色谱系统

为超过 1000 种不同测试条件及二元、三元或四元梯度，选择多达 8 种色谱柱和 26 种不同的溶剂。^{34, 35}

1290 Infinity 2D-LC 解决方案是您进行最复杂 PGI 分离的完美工具。与标准的一维 LC 相比，其功能强大的新特性，例如峰触发操作、转移梯度及创新性阀技术，可显著提高分离能力。^{30, 32}

安捷伦广泛的 LC 色谱柱家族可为您的分析分离提供最佳选择，同时方便您实施药典方法和进行持续的方法开发。您可从实验室开发设置中获取最大化的可扩展性，并可从全球化的服务和支持中受益。

ZORBAX 超高压快速高分离度 (RRHD) 色谱柱, 1200 bar 压力下稳定, 可提供 14 种固定相以实现 UHPLC 方法开发的灵活性。Poroshell 120 家族, 2.7 μm , 现在拥有 9 种固定相, 可在压力范围内提供高效快速的 LC 性能, 甚至可运用在常规 400 bar 仪器上。



Agilent ZORBAX 及 Poroshell 色谱柱

液相色谱质谱联用 (LC-MS)

遗传毒性杂质分析中的一个实质性突破进展是多种质谱 (MS) 检测器的应用。由于其高特异性和高灵敏度, 相比诸如单用 UV 的技术, 基于质谱的方法能轻易实现几百个 ppm 的检测限, 此外质谱方法一般都具有很好的可靠性和耐用性。

单四极杆质谱仪是已知杂质确认和未知杂质初步结构评估的有效分析工具。高灵敏 Q-TOF 质谱仪拥有更高的分辨率和质量精度, 可准确鉴定未知痕量杂质, 非常适合于遗传毒性杂质分析。^{9, 36} 三重四极杆 (QQQ) LC/MS/MS 系统已成为药物分析实验室中有机杂质定量分析的标准平台。QQQ 质谱仪结合多反应监测 (MRM) 可为多种分析物的定量测定提供非凡的灵敏度。^{9, 26, 29}



Agilent 6100 系列单四极杆质谱仪

Agilent 6100 系列 LC/MS 系统有着更快的采集速度, 使您可以充分利用 UHPLC 分离的优势。可变能量的源内碎裂可提供众多有价值的结构信息。直观的安捷伦化学工作站软件使您可在单一屏幕中同时设置控制 LC 和 MS, 而与 MassHunter 软件的整合可提高分析能力。甚至是在高达 10,000 u/s 的扫描速度下, 依然可获得优异的谱

图质量和精确的同位素比值, 从而实现可靠的鉴定和确认。6130B 和 6150B 型号目前整合了安捷伦喷射流技术, 能够提供更高的灵敏度。

利用 Agilent 6500 系列精确质量 Q-TOF 及安捷伦 iFunnel 技术, 您可获得飞克水平的灵敏度, 这种技术通过提高离子传输率, 可在任意一台高分辨 LC/MS 仪器中实现最低的检测水平。Agilent 6500 Q-TOF 中使用离子束压缩和塑形 (IBCS) 技术以维持分辨率和质量精度, 这种技术可在保持 40k 质量分辨率, 及亚 ppm 质量精度 (质量范围 m/z 20-10,000) 的同时提供最高的灵敏度。此外, 由于其谱图内



Agilent 6500 系列精确质量三重四极杆飞行时间 (Q-TOF) 质谱仪

动态范围可达 5 个数量级，说明其可用于痕量水平靶标分析（例如遗传毒性杂质），甚至当高丰度化合物（例如 API）存在时也可检测。先进的 MassHunter 数据分析软件中特有的分子特征提取 (MFE) 和分子式生成 (MFG) 功能，结合分子结构相关分析 (MSC) 软件，有助您应对遗传毒性杂质分析中的挑战。³⁶

所有 Agilent 6400 系列三重四极杆质谱仪均可为繁忙的实验室提供可靠的解决方案，灵敏度从 6420 到最顶级的 6490 增加了 50 倍，足可满足您



Agilent 6400 系列三重四极杆质谱仪

的要求。6400 系列使用动态多反应监测 (dMRM) 可简化方法开发，确保恒定的周期时间内具有一致的离子统计数值，因此其峰面积测定具有良好的重现性。

利用触发 MRM，您可以加速分析，节省时间。该功能结合了 MRM 定量分析和子离子谱图生成以进行数据库检索和化合物确认。

强大的 MassHunter 工作站软件显著增强了从方法优化和数据采集到数据处理和报告的工作效率。

气相色谱 (GC) 及 GC-MS

通常认为，顶空气相色谱和 GC-MS 是分析大量遗传毒性杂质的首选技术，例如卤化物、磺酸盐和环氧化合物。世界各地的质量控制实验室中使用 GC 顶空法进行溶剂残留分析，这也是 ICH Q3C 指南的要求。^{9, 37}

安捷伦提供品种齐全的气相色谱附件，使您可以根据您实验室的确切需要配置分析系统：

Agilent 7697A 顶空进样器有 111 个样品瓶的容量，三个 36 位样品瓶架可在仪器运行过程中进行更换，使得

7697A 成为高通量实验室的理想选择。

Agilent 7890 GC 系统特有的突破性微板流路控制技术实现了柱箱内可靠的无泄漏连接，为分析复杂基质提供了一个简单高效的解决方案，提高了工作效率和数据完整性。



配有 7697A 顶空进样器的 Agilent 7890B / 5977A GC/MSD

Agilent 5977A 系列 GC/MSD 系统使用带 AutoCI 功能的标准 CI 源，使得 CI 电离和 EI 电离一样容易，可在一次自动序列运行中提供所有电离模式（PCI、NCI 和 EI）。

MSD Productivity 化学工作站适用于大多数实验室，而 MSD Security 化学工作站适用于遵循 FDA 21 CFR 第 11 部分指南的实验室。

Agilent J&W DB-Select 624UI <467> 超高惰性气相色谱柱是特别针对美国药典方法 <467> 而设计的。与 USP 固定相 G43 等同，这种固定相设计为 USP 方法 <467>（分析活性药物成分中的残留溶剂）中指定的关键难分离化合物对能够提供最高的灵敏度和分辨率。⁴¹



安捷伦 J&W DB-Select 色谱柱

电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES) 及电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS)

ICP-OES 及 ICP-MS 是强大的多元素分析技术，可用于分析能导致 DNA 突变的金属杂质。^{9, 38, 39} 元素杂质程序的新草案 (USP<233>) 要求使用一个基于仪器的方法用于测定元素杂质，参考方法均基于 ICP-MS 或 ICP-OES。对于这两种方法，均可通过三种方式完成样品分析：直接分析（未使用溶剂），使用水或有机溶剂溶解进行样品前处理后分析，使用密闭容器微波系统进行酸消解后分析。



Agilent 700 系列 ICP-OES

Agilent 700 系列 ICP-OES 系统关注广泛用户的需求，包括那些正在寻找经济高效解决方案，以对大量原材料和药品中的元素杂质进行直接分析的用

户的需求。由于 700 系列可为药品中大多数规定的元素提供 ppb（十亿分之一）级别的检测限，因此在进行直接样品分析或小稀释因子稀释分析时能很容易地满足所规定的限量。它还可以提供扩展的动态范围，稳定的等离子体，以及主要、次要和痕量元素的一步测量。



Agilent 7700 系列 ICP-MS

Agilent 7700 系列 ICP-MS 的特征是检测限低，可确保原料药或成品药中所有规定的元素使用新方法都能很容易进行测定，无论其含量符合或低于规定水平，甚至在要求大幅稀释样品的

情况下。它也可与多种分离技术联合使用，例如 HPLC、GC 和 CE，可为元素不同化学形式的分离（或形态分析）提供一些选择。取决于样品的性质，几乎所有元素均可达到很低的检测限，包括那些 ICH Q3D 提及的更广泛分析物列表中的元素，例如 Au 和 Tl。

核磁共振 (NMR) 光谱

NMR 应用广泛，是因为它可提供分子中有关键合和立体化学的特定信息，这对于通常含量极低的遗传毒性杂质和降解物的结构解析特别重要。NMR 光谱仪的无损性、非侵入性特性使其成为表征极低水平的杂质和降解物的一种宝贵工具。NMR 还可提供定量结果，这也是杂质分析中的一个重要方面。

Agilent 400-MR 系统采用简洁的 DirectDrive 2 RF 架构，可提供精确时控的 RF 和梯度事件，并提供总脉冲程序控制，能够对小的杂质峰进行定量。DirectDigital 接收器防止正交伪峰，提供出色的基线、动态范围和灵敏度。Agilent NMR 系统由易于使用的 VnmrJ 4 软件控制，集成了实验设计、数据采集、分析和报告功能，让您可以快速地进行分析并有效组织结果。



Agilent 400-MR DD2 磁共振系统

1. ICH S2 (R1), Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use, **2012**.
2. Kirkland, D., and Snooding, D. Setting Limits for Genotoxic Impurities in Drug Substances: Threshold-Based and Pragmatic Approaches. *International Journal of Pharmaceutical Medicine*, **2004**, 18(4):197-20.
3. Müller, L. et al. A Rationale for Determining, Testing and Controlling Specific Impurities in Pharmaceuticals that Possess Potential for Genotoxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2006**, 44:198–211.
4. Robinson, D. Control of Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients: A Review and Perspective, *Org. Process Res. Dev.*, **2010**, 14(4):946–959.
5. Snodin, D.J., and Elder, D. Genotoxic Impurities Part 1: General Overview. *Pharmaceutical Outsourcing*, **May 2012**.
6. Liu, D.Q., Sun, M., and Kord, A.S. Recent Advances in Trace Analysis of Pharmaceutical Genotoxic Impurities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2010**, 51(5):999–1014.
7. Elder, D.P., Snodin, D., and Teasdale, A. Control and Analysis of Hydrazine, Hydrazides and Hydrazones-Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) and Drug Products. *J Pharm Biomed Anal.*, **2011**, 54:900-910.
8. Elder, D.P., Lipczynski, A.M. and Teasdale, A. Control and Analysis of Alkyl and Benzyl Halides and Other Reactive Organohalides as Potential Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients (APIs). *J.Pharm & Biomed Anal.*, **2008**, 48:497-507.
9. 药物杂质分析解决方案基础导论，安捷伦出版物 5991-0090CHCN
10. United States Pharmacopeia, Chapter <1058>, Analytical Instrument Qualification, Rockville, USA, **2008**.
11. ICH Q2 (R1), Validation of Analytical Procedures: Definitions and Methodology, Geneva, **2005**, in 2005 incorporated in Q2 (R1).
12. 生物制药实验室法规认证基础导论，安捷伦出版物 5990-7001CHCN
13. 分析仪器认证和系统验证基础导论，安捷伦出版物 5990-3288CHCN
14. 分析方法验证基础导论，安捷伦出版物 5990-5140CHCN
15. ICH Q3A (R2), Impurities in New Drug Substances, **2006**.
16. ICH Q3B (R2), Impurities in New Drug Substances, **2006**.
17. ICH Q3C (R5), Impurities: Guideline for Residual Solvents, **2011**.
18. ICH M7: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, Business Plan, **2010**, Position Paper, **2010**.
19. EMEA, Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities, Drafts released for consultation in **2002** and **2004**, Final version released in **2006**, CPMP/SWP/5199/02, EMEA/CHMP/QWP/2513442006; Committee for Medicinal Products (CHMP).
20. EMEA, Safety Working Group, Questions and Answers on the Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities, EMA, **2008** and **2009** (published as an official document in 2010:21. EMA/CHMP/SWP/431994/2007 Rev. 3) and **2012** (Published on the EMA website: <http://www.ema.europa.eu/ema>).
21. EMEA, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), EMEA/HMPC/107079/2007, Guideline on the Assessment of Genotoxicity of Herbal Substances/Preparations, **2008**.
22. FDA Draft guidance, Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products: Recommended approaches, **2008**.
23. European Commission Health & Consumer Protection Directorate - General Risk Assessment Methodologies and Approaches for Genotoxic, and Carcinogenic Substances, **2009**.

24. ICH Q3D, Impurities: Guideline for Metal Impurities, Business Plan, **2009**, Position Paper, **2009**.
25. David, F., et al. Method Selection for Trace Analysis of Genotoxic Impurities in Pharmaceuticals. *Chromatography Online*. December, **2009**.
26. 利用安捷伦 1200 系列 RRLC 和 6410B 三重四极杆液质联用仪对阿替洛尔中存在的遗传毒性的“杂质 D”的定量分析, 安捷伦出版物 5990-4460CHCN
27. Vanhoenacker, G., David F., and Sandra, P. Analysis of Potential Genotoxic Arylamine and Aminopyridine Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients (分析活性药物成分中的潜在遗传毒性芳基胺和氨基吡啶杂质), 安捷伦出版物 5990-5732EN
28. Carr, J.E. et al. LC-ICP-MS for Nonmetal Selective Detection of Pharmaceuticals, *Curr. Pharm. Analysis*, **2008**, 4:206-214.
29. Direct analysis by LC/MS speeds up determination of potential, genotoxics in pharmaceutical drug candidates (LC/MS 直接分析可加速候选药物中的潜在遗传毒性测定), 安捷伦出版物 5989-7925EN
30. Two dimensional chromatography: LC-GC online coupling of an Agilent 1260 Infinity LC and an Agilent 7890A GC (二维色谱: 利用 Agilent 1260 Infinity LC 及 Agilent 7890A GC 实现 LC-GC 在线联用), 安捷伦出版物 5990-8025EN
31. Ultra-Low Level Impurity Analysis by Capillary Zone Electrophoresis (利用毛细管区带电泳进行超低水平杂质的分析), 安捷伦出版物 5990-3381EN
32. Detection of Impurities by Heart Cutting Using the Agilent 1290 Infinity 2D-LC Solution (利用 Agilent 1290 Infinity 2D-LC 解决方案以中心切割方式检测杂质), 安捷伦出版物 5991-0834EN
33. Single-Run Assay and Impurity Testing of Fixed-Dose Combination Drugs Using the Agilent 1200 Infinity Series High Dynamic Range Diode Array Detector Solution (利用 Agilent 1200 Infinity 系列高动态范围二极管阵列检测器解决方案对固定剂量复合制剂进行单次分析测定和杂质检验), 安捷伦出版物 5991-0115EN
34. Agilent 1200 Infinity Series Multi-Method Solutions: Infinitely Better for Multiple LC Methods (Agilent 1200 Infinity 系列多方法解决方案: 无限卓越的多种 LC 方法), 安捷伦出版物 5990-6226EN
35. Agilent 1260 Infinity Method Development Solution: Automatic Scaling of Gradient Times and Flow Rates for Different Column Lengths and Diameters Using the Agilent Chemstation Method Scouting Wizard (Agilent 1260 Infinity 方法开发解决方案: 利用安捷伦化学工作站方法检索向导自动为不同色谱柱长度和尺寸调整梯度时间和流速), 安捷伦出版物 5990-6863EN
36. Pharmaceutical Impurity Identification and Profiling Using Agilent Q-TOF LC/MS Combined with Advanced MassHunter Data Processing Software (利用 Agilent Q-TOF LC/MS 联合先进的 MassHunter 数据处理软件进行药物杂质的鉴定和分析), 安捷伦出版物 5991-1375EN
37. 使用 Agilent 7697A 顶空进样器进行 USP <467> 溶剂残留的高重现性分析, 安捷伦出版物 5990-7625CHCN
38. Pharmaceutical Analysis by ICP-MS: New USP Test for Elemental Impurities to Provide Better Indication of Potentially Toxic Contaminants (利用 ICP-MS 进行药物分析: 使用新型 USP 元素杂质测试方法以更好地指示潜在毒性污染物), 安捷伦出版物 5990-5427EN
39. Regulatory Compliance for ICP-MS (ICP-MS 的法规遵从), 安捷伦出版物 5990-9073CHCN
40. Sensitivity Enhancement for Potential Genotoxic Impurity Determination Using Agilent 1290 infinity LC system and a 60 mm Agilent Max-Light Cartridge cell (利用 Agilent 1290 infinity LC 系统及 60 mm 安捷伦最大光强卡套式流通池可提高潜在遗传毒性杂质测定的灵敏度), 安捷伦出版物 5990-7443EN
41. 使用安捷伦特殊设计和测试的针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱进行溶剂残留分析, 安捷伦出版物 5991-0616CHCN

欲了解更多信息, 请访问:

www.agilent.com/chem/togetherpharma

查找安捷伦客户服务中心

www.agilent.com/lifesciences/contactus

安捷伦客户服务中心:

免费专线: 800-820-3278

400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

customer-cn@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/quote:cn

仅限研究使用。不可用作诊断方法。

本资料中的信息如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2013

2013 年 3 月 21 日, 中国印刷

5991-1876CHCN



Agilent Technologies