







β -内酰胺类抗生素聚合物 杂质研究的一般考虑

国家药品监督管理局药品审评中心
2020年7月



国家药品监督管理局

National Medical Products Administration

 中国药品监管  中国药闻  中国药监  化妆品监管  邮箱  政务信

请输入关键字

国家药监局关于开展化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价工作的公告 (2020年第62号)

仿制药注射剂 一致性评价 (620件)	β-内酰胺类抗生素 (153件)		
	头孢菌素类 (125件)	青霉素类 (13件)	单环β-内酰胺类 (15件)

2018年5月10日至2020年5月26日统计数据 (按受理号计)

β -内酰胺类抗生素聚合物杂质研究存在的困难与挑战

以下描述“聚合物杂质”均指 β -内酰胺类抗生素聚合物杂质

- ✓ 聚合物杂质对照品分离获取难度大
- ✓ G-10、TSK等凝胶色谱柱控制聚合物杂质均存在缺陷
- ✓ 制定指针性聚合物杂质分析方法工作量大，耗时长，分析过程需要采用液质联用等分析仪器

聚合物杂质研究的总体考虑

仿制药的质量应与参比制剂一致！

□ 聚合物杂质的研究概况



1. 结构特点
2. 聚合反应机理
3. 分析方法

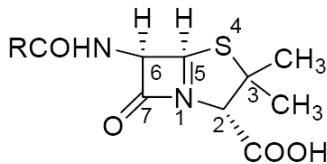
□ 聚合物杂质的研究思路

□ 总结

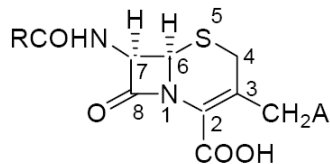
1. 结构特点

β -内酰胺类抗生素 (β -lactams antibiotic) 指化学结构中具有 β -内酰胺环的一大类抗生素，主要包括青霉素类和头孢菌素类，以及碳青霉烯类、头霉素类、单环 β -内酰胺类等其他非典型 β -内酰胺类抗生素。

经典的 β -内酰胺抗生素

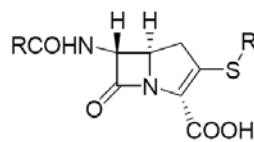


Penicillins
青霉素类

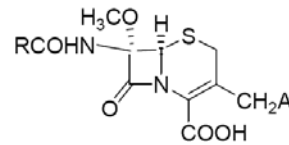


Cephalosporins
头孢菌素类

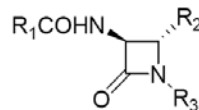
非经典的 β -内酰胺抗生素



Carbapenem
碳青霉烯类



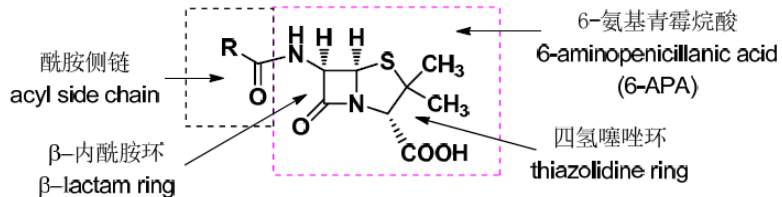
Oxacephem
头霉素类



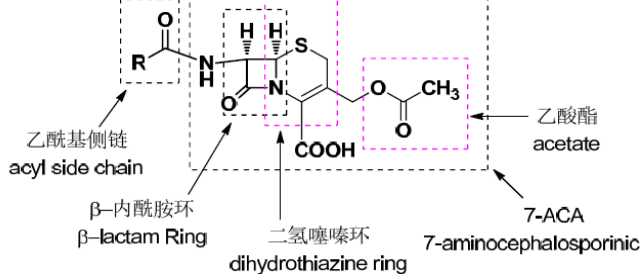
Monobactam
单环 β -内酰胺类

1. 结构特点

青霉素类（易形成聚合物）

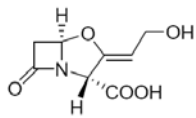


头孢菌素类

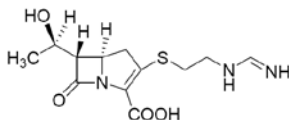


β-内酰胺四元环张力较大，在一定条件下通常趋向生成更稳定的链状酰胺化合物

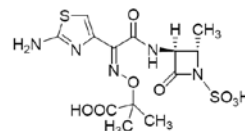
非典型 β-内酰胺类



克拉维酸
Clavulanic Acid



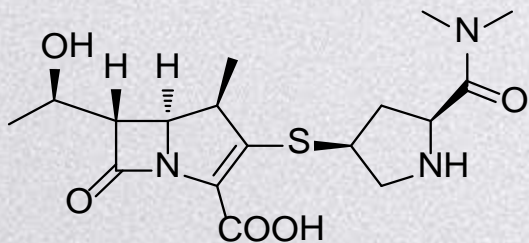
亚胺培南
Imipenem



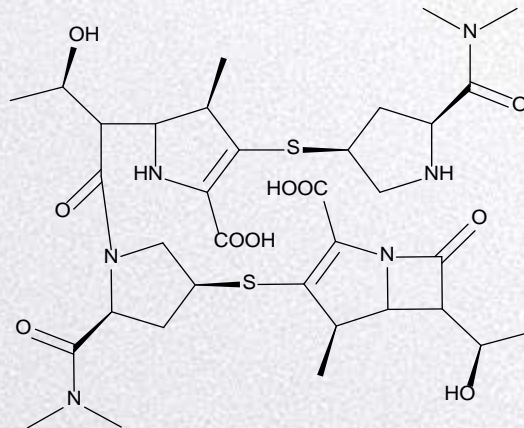
氨曲南
Aztreonam

L型-聚合反应: 侧链活性基团(主要为自由氨基)直接亲核攻击 β -内酰胺环中的羰基碳原子或其它活性位点。

美罗培南

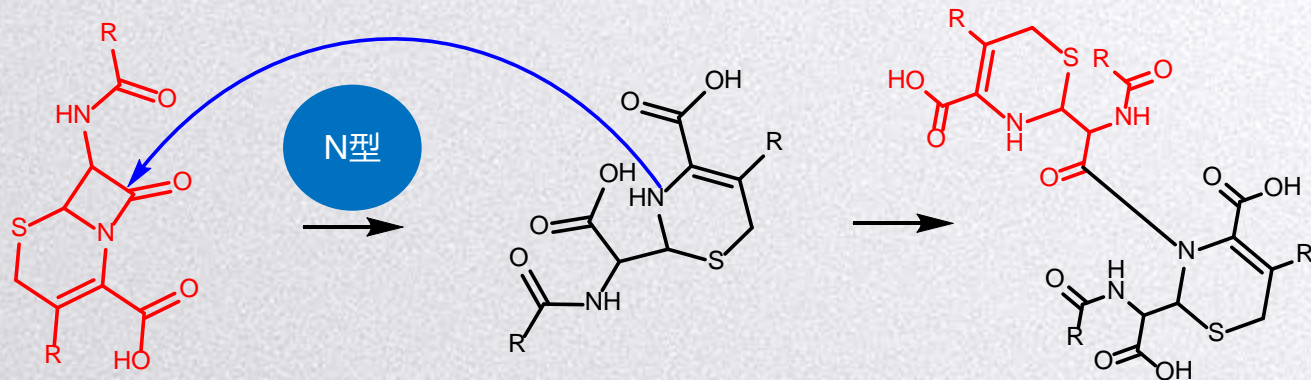


侧链中的仲氨基作为亲核基团



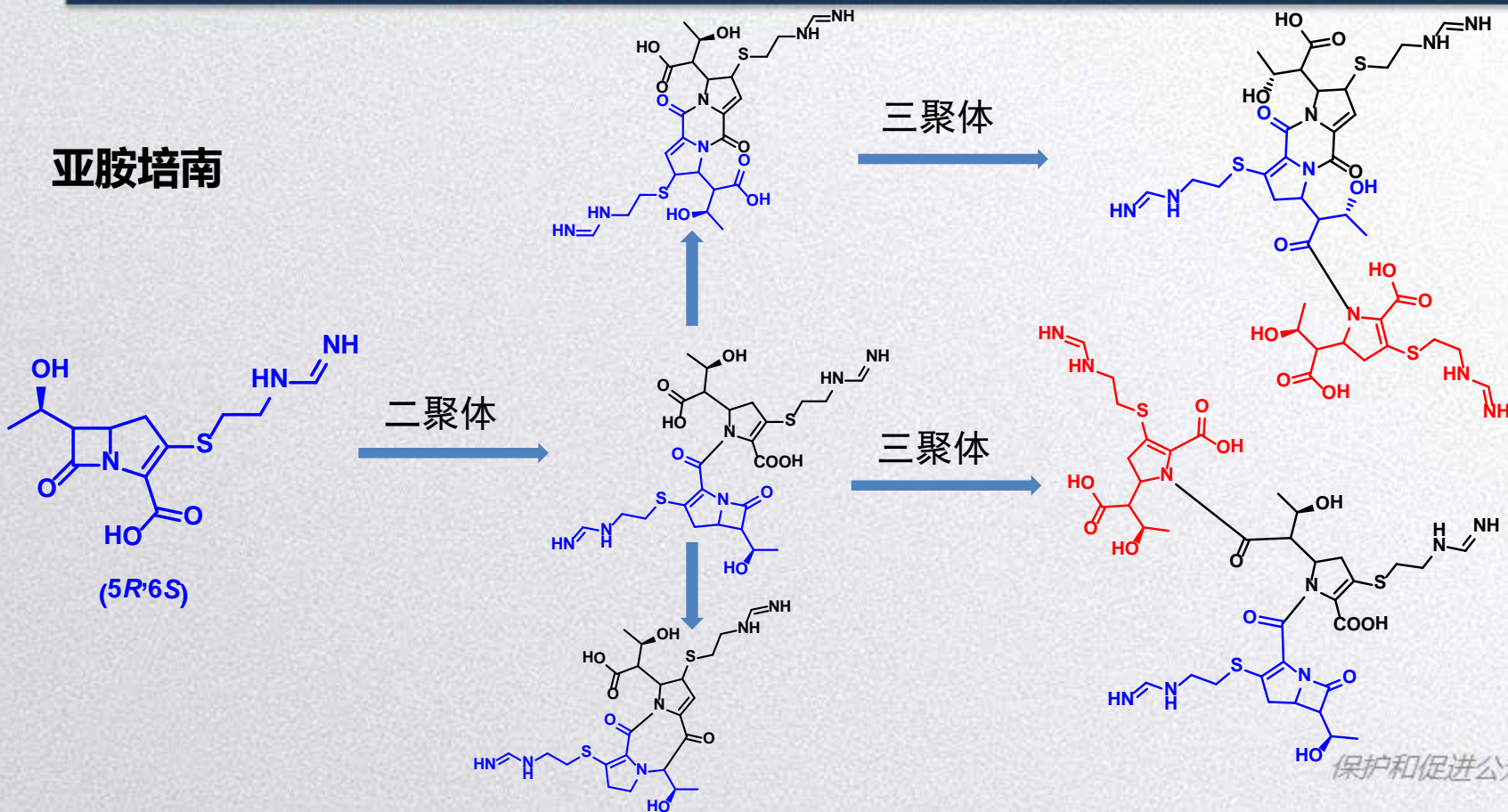
2. 聚合反应机理

N型-聚合反应：仅与**母核相关**的聚合反应，对于侧链中不含有自由氨基的抗生素， β -内酰胺环**开环后**形成具有亲核攻击能力的**仲氨基结构**，与另一分子抗生素的**羰基**发生亲核加成反应形成聚合物。



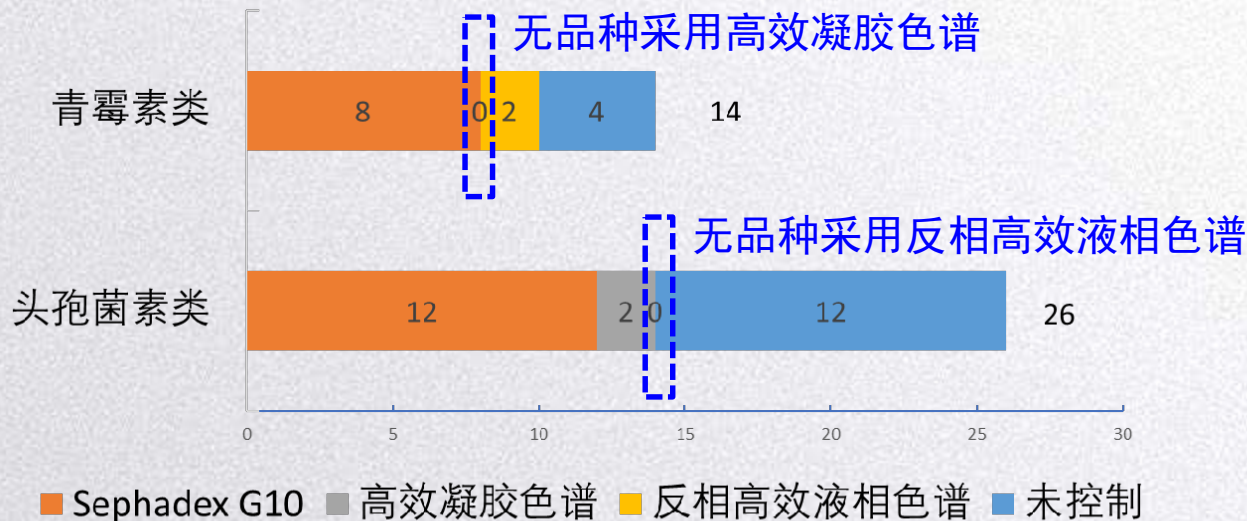
2. 聚合反应机理

亚胺培南



3. 分析方法

中国药典2015版聚合物测定方法统计



中国药典2015年版第一增补本**头孢唑肟钠**：
 将**头孢唑肟聚合物**分析方法修订为**反相高效液相色谱**（控制二聚体）

国外药典		青霉素类	头孢菌素类	单环 β -内酰胺类 (培南)
BP2020	收载数量	21	20	2
	含聚合物控制	13	3	1
USP43	收载数量	19	25	2
	含聚合物控制	1	7	1

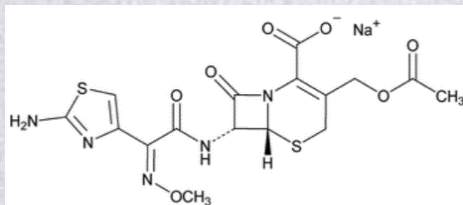
表格数据仅粗略统计 (不全)

特点:

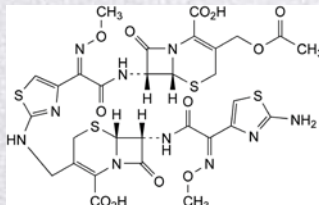
- ✓ 聚合物杂质控制主要以二聚体作为特定杂质
- ✓ 分析手段主要采用反相色谱法
- ✓ 聚合物杂质分离通常采用梯度洗脱程序

3. 分析方法

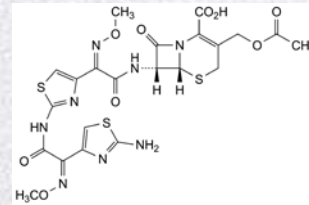
头孢菌素类	USP43	BP2020	ChP2015
头孢噻肟钠 (Cefotaxime Sodium)	<p>有关物质方法1: 含N-甲酰基头孢噻肟和头孢噻肟二肟杂质时, 使用方法1。 L1填充柱 (C18色谱柱), 235nm, 梯度洗脱 头孢噻肟二聚体 (RRT2.3) $\leq 1.0\%$</p> <p>有关物质方法2: 含噻唑基乙二醛甲基肟、7-氨基头孢菌素、头孢噻肟开环内酯和溴乙酰基类似物时, 使用方法2。 L1填充柱 (C18色谱柱), 235nm, 梯度洗脱 头孢噻肟二聚体 (RRT1.26) $\leq 1.0\%$</p>	<p>有关物质: C18色谱柱, 235nm, 梯度洗脱 杂质F (二聚体, RRT2.4) $\leq 1.0\%$ 杂质G (主成分与二聚体之间的聚合物, RRT3.1) $\leq 0.2\%$</p>	<p>有关物质: C18色谱柱, 235nm, 等度洗脱至主成分出峰后再梯度洗脱 单杂 $\leq 1.0\%$</p> <p>头孢噻肟聚合物: G-10色谱柱, 254nm, 含水流动相等度洗脱 头孢噻肟聚合物 (主成分峰前) $\leq 0.5\%$</p>



头孢噻肟钠

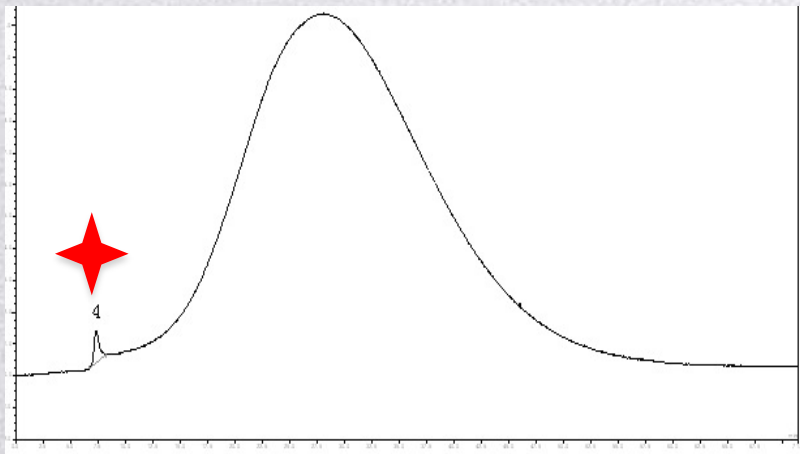


BP杂质F

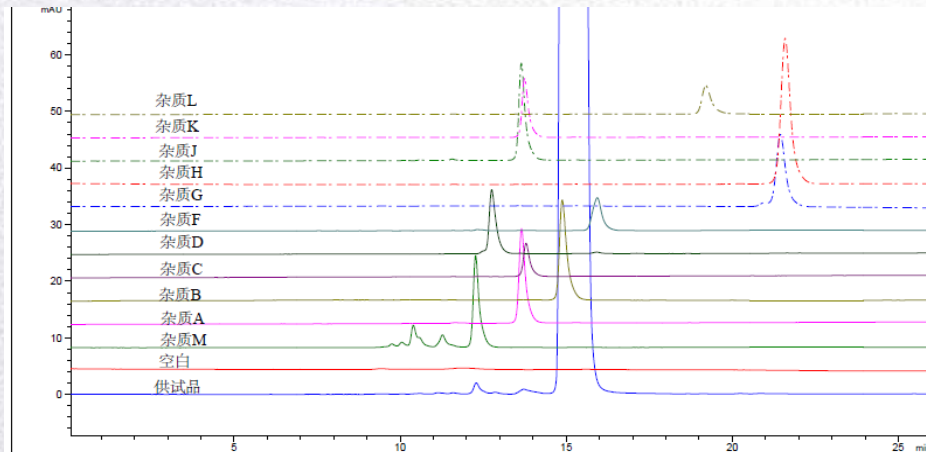


BP杂质G

中国药典/申报标准聚合物杂质的主要分析方法



Sephadex G-10色谱柱法



TSK色谱柱法
小分子杂质可在主成分峰前、后出峰
仅杂质M为二聚体

SEC

HPSEC

HPLC

Sephadex G-10

原理：分子筛

缺点：

- 分离能力、灵敏度和重现性均较差
- 只能使用水相系统作为流动相

高效凝胶色谱柱

（如：TSK色谱柱）

原理：分子筛、吸附、分配、离子络合等

缺点：

- 专属性差
- 单一色谱峰含小分子杂质

反相色谱柱

原理：以分配为主

缺点：按照杂质极性大小出峰，聚合物极性一般小于小分子杂质，如流动相不采用梯度洗脱，杂质存在漏检风险

- 聚合物杂质的研究概况
- 聚合物杂质的研究思路
- 总结



1. 聚合物杂质专家咨询会

会议时间：2019年10月23日

参会人员：国家药典委领导、抗生素专业委员会专家（质量控制）、四川抗生素研究所专家和中国科学院上海药物研究所专家（生产工艺）、药审中心

讨论议题：

- ✓ 聚合物杂质产生的原因
- ✓ 聚合物杂质的可靠检查方法
- ✓ 聚合物杂质的科学表征及限度制定原则

2. 研究思路

聚合物
杂质谱分析

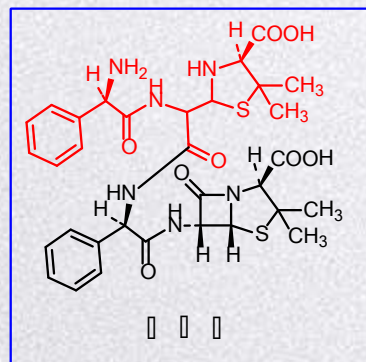
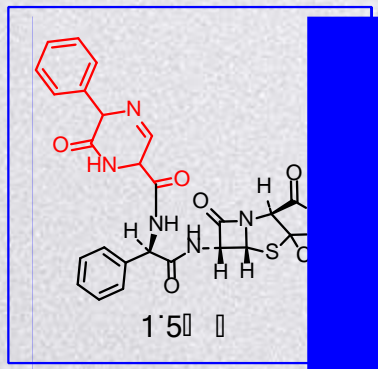
分析方法
建立与验证

限度制定

2.1 聚合物杂质谱分析

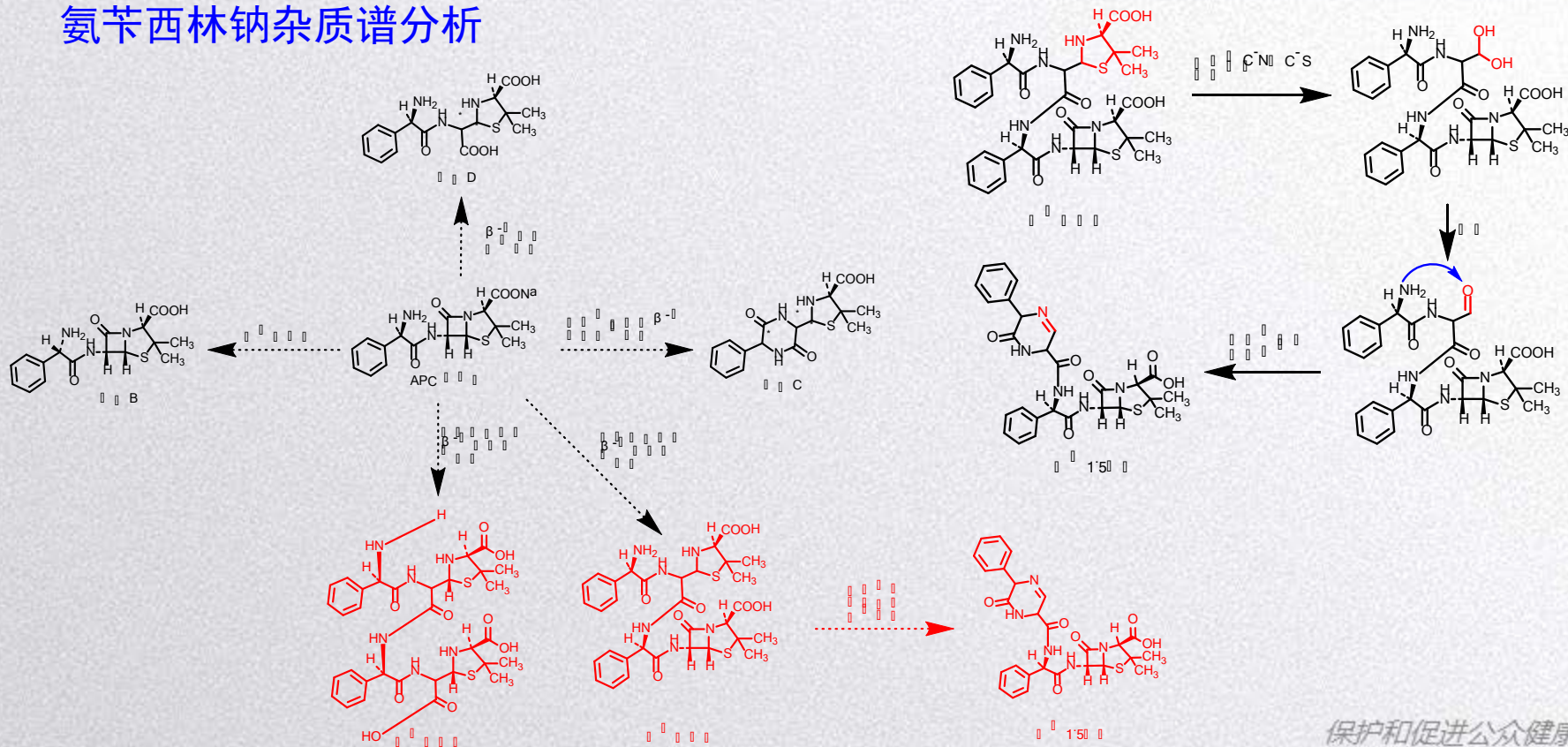
结合原料药结构特点、制备工艺、国内外药典标准及相关文献分析聚合物可能的杂质谱，包括但不限于

- ✓ 分子量低于主成分的聚合物杂质
- ✓ 分子量介于主成分与二聚体之间的聚合杂质
- ✓ 二聚体、三聚体或多聚体等



2.1 聚合物杂质谱分析

氨苄西林钠杂质谱分析





国家药品监督管理局药品审评中心

CENTER FOR DRUG EVALUATION, NMPA
ЦЕНТР ДЛЯ ОЦЕНКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, ИМБВ

国家药监局药审中心关于发布《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》等3个文件的通告（2020年第2号）

为加强对化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价工作的指导，药审中心组织制定了《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价申报资料要求》《化学药品注射剂（特殊注射剂）仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》，根据《国家药监局综合司关于印发药品技术指导原则发布程序的通知》（药监综药管〔2020〕9号）要求，经国家药品监督管理局审核同意，现予发布。

特此通告。

国家药品监督管理局药品审评中心
2020年5月14日

第十条：药品注册标准收载检验项目少于中国药典规定或质量指标低于中国药典要求的，应执行中国药典规定。



国家药品监督管理局
National Medical Products Administration

中国药品监管 中国药闻 中国药监 化妆品监管 邮箱 政务
请输入关键字

国家药监局关于实施2020年版《中华人民共和国药典》有关事宜的公告
(2020年第80号)



2020年07月03日发布

2020年版《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）已由国家药品监督管理局 国家卫生健康委2020年第78号公告发布，自2020年12月30日起实施。现就实施本版《中国药典》有关事宜公告如下：

第四条：药品注册标准收载检验项目少于药典规定或质量指标低于药典要求的，应执行药典规定。

总体考虑： 已收载于现行版国内外药典标准（EP/BP、USP和/或ChP）的 β -内酰胺类抗生素，申报标准的**有关物质分析方法分离检出能力和杂质控制要求**不低于国内外药典标准（仿制药与参比制剂质量等同性的前提）。

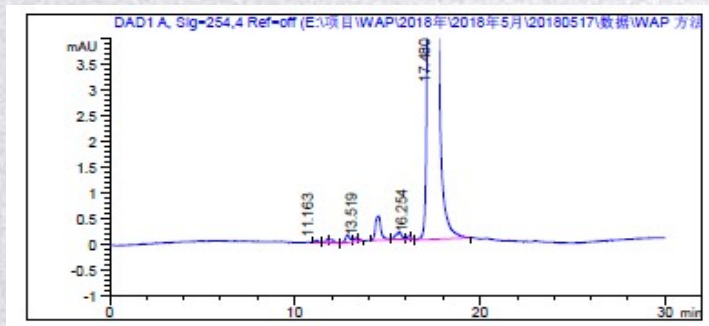
围绕中国药典质量标准对聚合物杂质研究进行以下考虑

基本考虑1： 中国药典反相色谱法已控制聚合物的情形
申报标准有关物质分析方法（控制二聚体）与中国药典一致的，已进行必要的分析化学确认，认可拟定的有关物质分析方法。
如：头孢唑肟钠、氨苄西林钠、阿莫西林钠等。

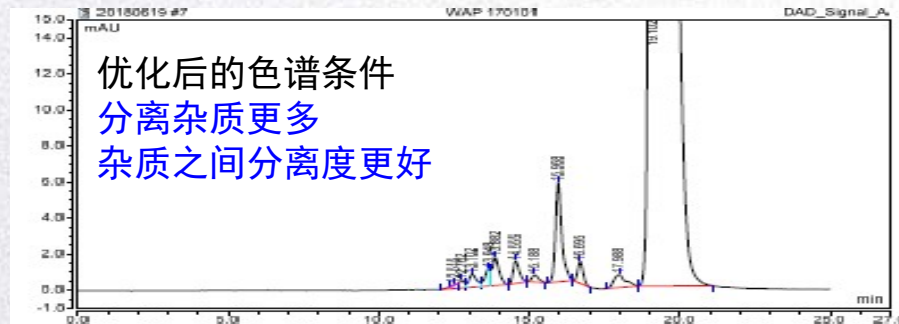
基本考虑2：中国药典单独收载聚合物或有关物质II的情形

- **G-10色谱柱法控制聚合物**：在优化色谱条件后需根据原料药和制剂聚合物实测结果，同时提供多批参比制剂实测情况，严格聚合物杂质限度。
- **TSK色谱柱法控制有关物质II**：需采用富含杂质的样品（如加速试验末期样品、效期末样品和配伍试验样品）进一步优化色谱条件（如更换色谱柱型号、改变流动相或洗脱条件等），优选可以分离检出杂质更多以及主峰与相邻杂质和杂质之间分离度更好的色谱条件。

TSK色谱条件的优化



色谱柱：TSKgel G2000SWXL(7.8 mm×300 mm, 5μm) L-S-65；
 流动相：0.005mol/L磷酸氢二钠溶液-0.005mol/L磷酸二氢钠溶液（61：39）；
 检测波长：254nm；流速：0.6ml/min；
 柱温：25℃；进样体积：20μl；供试品浓度：0.5mg/ml

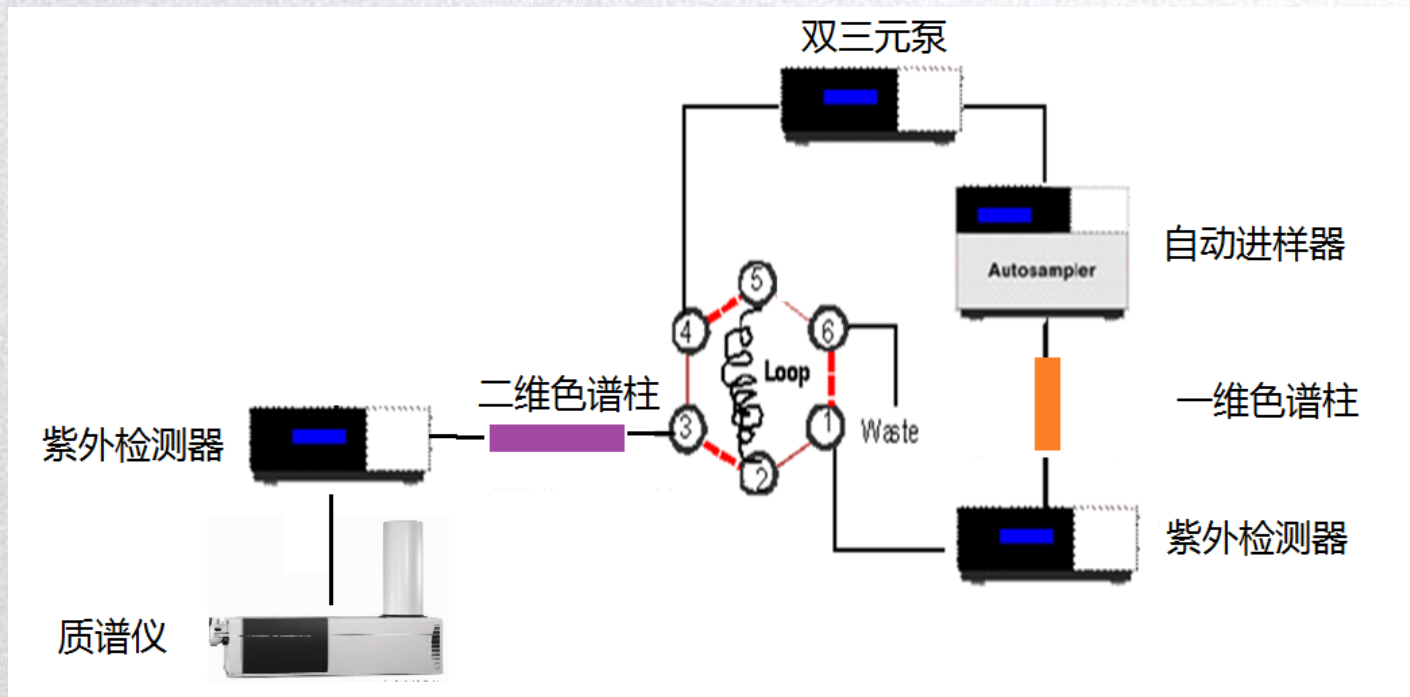


色谱柱：TSKgel G2000SWXL(7.8 mm×300 mm, 5μm) L-S-72；
 流动相：（0.005mol/L磷酸氢二钠溶液-0.005mol/L磷酸二氢钠溶液（61:39））-乙腈（85：15）；检测波长：231nm；流速：0.6ml/min；柱温：25℃；进样体积：20μl；供试品浓度：0.5mg/ml

■ 确定是否为聚合物的考虑

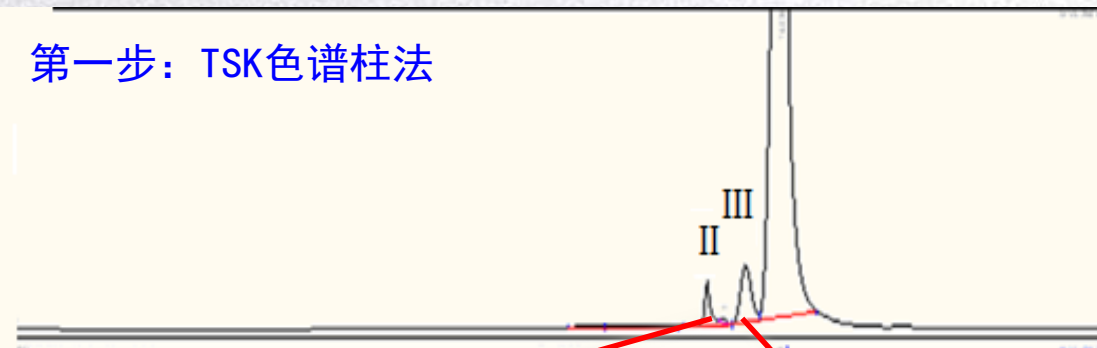
- 液质联用技术（ LC-MS/MS ）
 - 主峰前后的聚合物杂质峰
 - 一级质谱+二级质谱，推导聚合物可能的聚合方式
 - 确认是否包含有关物质方法已分离和控制的杂质
- 杂质对照品（小分子）
 - 确认是否包含有关物质方法分离和控制的杂质
- 二维色谱柱切换法
 - 考察聚合物检查杂质峰在有关物质检查条件下的色谱行为

二维色谱柱切换法示意图

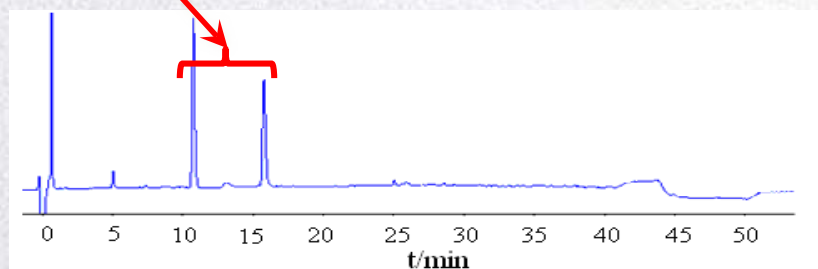
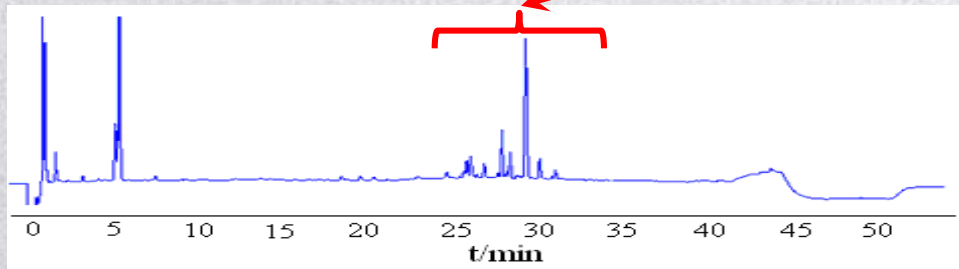


XX西林钠二维
色谱柱切换法

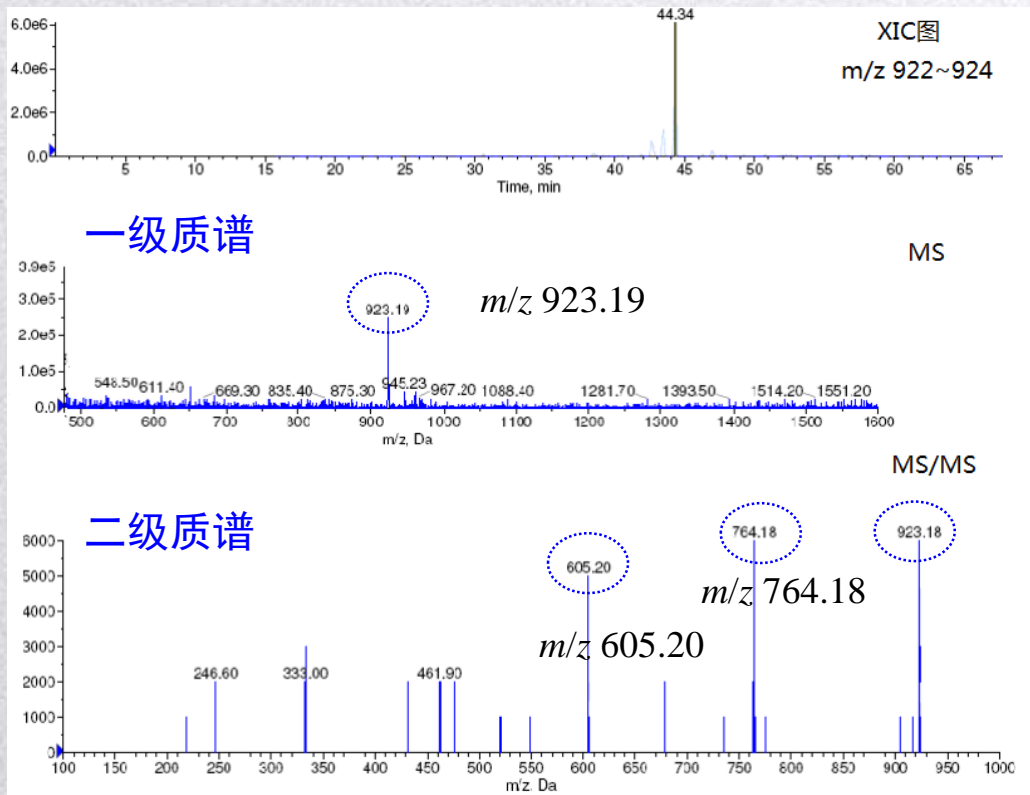
第一步：TSK色谱柱法



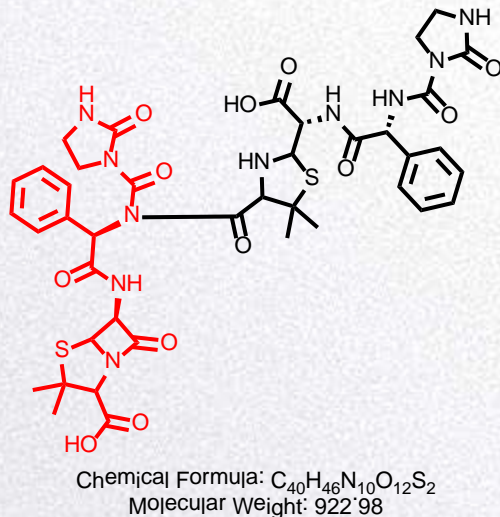
第二步：C18色谱柱



第三步：LC-MS/MS



确认是否为聚合物？



基本考虑3：中国药典和国外药典均未收载聚合物的情形

- **总体考虑：**建议参考中国药典2015年版第一增补本收载的头孢唑肟钠聚合物检查方法的**修订**情况，采用C18色谱柱法、超高效液相法或其他可行的分析方法研究控制聚合物。

	ChP2015年版二部	ChP2015年版第一增补本
检查项	头孢唑肟聚合物	有关物质
色谱柱	G-10色谱柱	H(U) PLC-C18色谱柱
系统适用性 溶液	无	0.1g/ml头孢唑肟溶液 (pH 7.0 磷酸盐缓冲液) 室温放置24小时
定位	蓝色葡聚糖2000	二聚物峰RRT=1.3
定量方法	限度：≤0.10%	主成分自身对照法 限度：≤0.1%

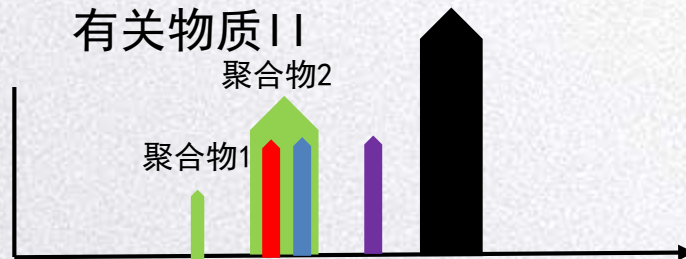
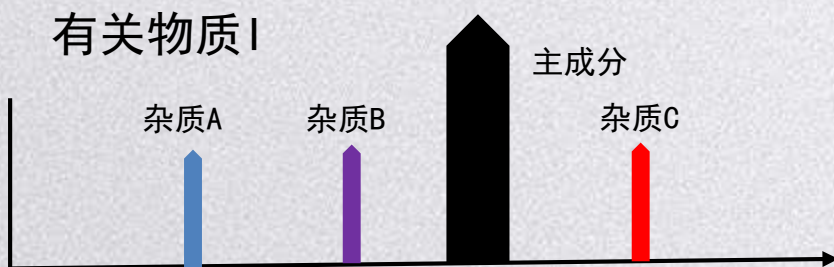


- **色谱条件优化：**采用**富含杂质的样品**（如加速试验末期样品、效期末样品和配伍试验样品）对有关物质色谱条件进行**比较优选研究**（色谱柱型号、流动相组成比例及洗脱程序、检测波长等），保证杂质有效分离和检出。
- **聚合物确定：**采用**LC-MS/MS等联用技术**测定分子量（对采用一级质谱推定结构的化合物应提供二级质谱数据），研究分析其中是否包含有关物质方法已经可以分离和控制的杂质；采用**添加杂质对照品**确认聚合物检查杂质峰是否包含有关物质方法已经可以分离和控制的杂质；通过**杂质的富集**或**二维色谱柱切换法**等分析技术研究聚合物。

- **聚合物检查方法拟定：**应检查和控制有关物质检查方法未控制的杂质（作为聚合物检查项或有关物质II），聚合物杂质已在有关物质项下专属控制的列入有关物质检查项
- **系统适用性溶液：**采用聚合物杂质对照品或系统适用性溶液（采用临时降解溶液，不建议采用强酸强碱等过度剧烈条件的降解溶液）定位。
- **方法学验证：**分析方法需进行系统验证（包括专属性、灵敏度、校正因子等）。

基本原则

- ✓ 参照ICH或抗生素指导原则拟定**已知特定杂质**和**未知杂质**的控制限度，或结合**多批**参比制剂的实测结果拟定。如特定杂质超过参比制剂的检测数据，必要时需提供限度制定的安全性依据。
- ✓ 采用TSK法控制聚合物的，在规定总杂的基础上，建议增加**特定杂质**（如采用相对保留时间或相对保留时间范围）控制。



聚合物杂质含量 = 有关物质 II 聚合物杂质峰 - 有关物质 I 已定量杂质

- 聚合物杂质的研究概况
- 聚合物杂质的研究思路
- 总结

总 结

总体考虑：仿制药应建立仿品种的研究思维，使其与参比制剂质量和疗效一致。

研究思路：申请人应重视有关物质分析方法的研究。现阶段围绕中国药典逐步提升聚合物杂质控制的质量标准，科学制定聚合物控制策略。

预期目标：随着科学技术的不断发展、对聚合物杂质安全性和结构特征认知水平的逐步提高和质量研究工作的逐渐深入，药审中心将与工业界、药检机构和国家药典委共同推动聚合物杂质研究工作的逐步完善。

谢谢！

