·实验研究·

化学药品中亚硝胺杂质风险评估与控制体系的构建及应用

邵方娴[1,2],芦　丽[1,2],黄朝瑜[1,2],许　慧[1,2],李　睿[1,2*],严　菲[1,2*]
(1 江苏省药品监督检验研究院,南京 210019; 2 国家药品监督管理局监管科学创新研究基地,南京 210019)

[摘要]　**目的:**构建化学药品中亚硝胺杂质风险评估与控制体系,并用于盐酸普萘洛尔片中亚硝胺杂质的研究。**方法:**检索各国药品监管机构、PubMed、Elsevier 和 Wiley 网站,对亚硝胺杂质产生机制、毒性评估和控制措施进行分析总结,对药品中亚硝胺杂质风险评估与控制的指导原则进行梳理。**结果:**从亚硝胺杂质风险评估要素、杂质限度的确定、确认性检测以及过程控制要素 4 个方面构建了亚硝胺杂质风险评估与控制体系,并应用于盐酸普萘洛尔片中亚硝胺杂质的评估,采用鱼骨分析法从盐酸普萘洛尔片的原料、辅料、工艺过程和贮存等方面分析亚硝胺杂质风险因素,对抽检样品及其原料进行测定,结合原辅料相容性、影响因素和加速稳定性试验初步探究影响亚硝胺杂质产生的因素并提出控制措施。**结论:**构建的化学药品中亚硝胺杂质风险评估与控制体系有助于药品中亚硝胺杂质控制策略的制定,也为监管部门及制药企业实施亚硝胺杂质风险精准控制提供技术参考。

[关键词]　化学药品;亚硝胺杂质;风险评估与控制体系;盐酸普萘洛尔片
[中图分类号] R917　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003－3734(2026)19－2120－09

Establishment of a risk assessment and control system for nitrosamine impurities in chemical drugs and its application

SHAO Fang-xian[1,2], LU Li[1,2], HUANG Chao-yu[1,2], XU Hui[1,2], LI Rui[1,2*], YAN Fei[1,2*]
(1 *Jiangsu Institute for Drug Control*, *Nanjing* 210019, *China*; 2 *NMPA Center for Innovation and Research in Regulatory Science*, *Nanjing* 210019, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To establish a risk assessment and control system for nitrosamine impurities in chemical drugs and apply it to the study of nitrosamine impurities in propranolol hydrochloride tablets. **Methods**: Information was retrieved from various national drug regulatory agencies, PubMed, Elsevier and Wiley websites, and the formation mechanisms, toxicity assessment, and control measures of nitrosamine impurities were analyzed and summarized. Guidelines for risk assessment and control of nitrosamine impurities in pharmaceuticals were systematically reviewed. **Results**: A risk assessment and control system for nitrosamine impurities was constructed, covering four key aspects: risk assessment elements, determination of impurity limits, confirmatory testing, and process control factors. This system was applied to evaluate nitrosamine impurities in propranolol hydrochloride tablets. Using fishbone diagram analysis, risk factors for nitrosamine impurities were identified from aspects such as active ingredients, excipients, manufacturing processes, and storage conditions of the tablets. Samples from market surveillance and their raw materials were tested. Factors influencing the formation of nitrosamine impurities were preliminarily investigated through excipient compatibility studies, stress testing, and accelerated stability testing,

[基金项目]　2024 年国家药品抽检计划资助项目(国药监药管〔2024〕1 号)
[作者简介]　邵方娴,女,副主任药师,主要从事药物分析工作。E-mail: medicine-sfx@163.com。
[通讯作者]　*李睿,女,主任药师,主要从事药物质量管理工作。E-mail: 910768507@qq.com。*严菲,女,主任药师,主要从事药物分析工作。E-mail: 37931658@qq.com。
[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.19.014

and corresponding control measures were proposed. **Conclusion**: The established risk assessment and control system for nitrosamine impurities in pharmaceuticals will aid in the development of strategies for managing these impurities. It also provides technical references for regulatory authorities and pharmaceutical companies to implement precise control of nitrosamine-related risks.

[**Key words**] chemical drug; nitrosamine impurities; risk assessment and control system; propranolol hydrochloride tablets

众所周知,药物并非纯净物质,其在生产储运过程中常常会引入或产生“杂质”,而杂质的存在,又会带来潜在的安全性问题。基因毒性杂质危害性尤其大,需将其严格控制在限度范围内,以保障用药安全。为此,自 2006 年以来,ICH 及各国药品监管机构陆续出台了一系列基因毒性杂质控制的相关指导原则。2018 年缬沙坦原料中检出微量杂质 *N*-亚硝基二甲胺(*N*-nitrosodimethylamine,NDMA),该事件引起制药行业的广泛关注,国际癌症研究机构将 NDMA 列为 2A 类致癌物质。228 种低分子量亚硝胺衍生物的动物实验数据显示,82% 的化合物经不同给药途径均表现出体内致癌性[1-2]。ICH M7 将这类含有亚硝胺结构的化合物列为具有较高致癌风险的“关注队列”,并予以严格的监管。随着研究的深入,陆续在其他沙坦类药物以及抗胃溃疡药雷尼替丁和尼扎替丁、降糖药二甲双胍、抗结核药利福平和利福喷丁以及抗病毒药物阿昔洛韦等多种原料药或其制剂中检出了小分子亚硝胺杂质[3-6]。2021 年,伐尼克兰片中检出 *N*-亚硝基伐尼克兰,这类与药物相关的亚硝胺杂质(nitrosamine drug substance-related impurities,NDSRIs)受到监管机构的关注,相关研究表明约 40.4% 和 29.6% 的原料药(active pharmaceutical ingredient,API)相关杂质是潜在的亚硝胺前体[7]。截至目前因 NDSRIs 超限被禁售或召回的药品种类超过 20 种[8-10]。针对杂质引起的安全性以及药物供应短缺的问题,国家药品监督管理局药品审评中心(Center For Drug Evaluation,CDE)、美国 FDA 及欧洲 EMA 出台了相应的指导原则,但上述指导原则缺少统一评估流程,影响亚硝胺杂质控制效率,因此构建通用的亚硝胺杂质风险评估与控制体系,对于化学药品中亚硝胺杂质控制有重要意义。

本文通过文献调研的方式对亚硝胺杂质产生机制、毒性评估和控制措施进行分析总结,结合国家药品监督管理局(National Medical Products Administration,NMPA)、ICH、美国 FDA 和欧洲 EMA 发布的亚硝胺杂质控制指导原则,拟从亚硝胺杂质风险评估要素、杂质限度的确定、确认性检测以及过程控制要素四方面阐述亚硝胺杂质风险评估与控制体系的构建过程,着眼于 2024 年国家药品抽检基因毒性杂质专项品种盐酸普萘洛尔片中 *N*-亚硝胺普萘洛尔(*N*-nitroso-propranolol,NPPN)的研究,以推进该体系的实际应用。

材　　料

检索范围:NMPA(https://www.nmpa.gov.cn)、美国 FDA(https://www.fda.gov)、欧洲 EMA(https://www.ema.europa.eu)、加拿大卫生部(Health Canada,https://www.canada.ca/en/health-canada.html)、PubMed(https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov)、Elsevier(https://www.elsevier.cn/researcher/author/publish-with-us)、Wiley(https://onlinelibrary.wiley.com)。检索时限:2020—2025 年。

国家药品抽检样品,共计 77 批:A 企业 15 批;B 企业 10 批;C 企业 18 批;D 企业 12 批;E 企业 8 批;F 企业 14 批;征集的近效期样品,共计 12 批:A 企业 3 批;B 企业 4 批;C 企业 1 批;F 企业 4 批;征集的原料药,共计 10 批:A 企业原料 4 批;B 企业 3 批原料;D 企业 1 批原料;F 企业 2 批原料。

方法和结果

1　亚硝胺杂质相关指导原则

自 2018 年亚硝胺杂质事件爆发后,各国药品监管部门陆续出台了一系列针对亚硝胺杂质进行风险评估和控制的指导文件,提出了“避免为主,控制为辅”亚硝胺杂质控制理念,采用通用的三步法策略指导企业对已上市药品中亚硝胺类物质进行评估与控制,第一步风险评估,第二步确认性检测,第三步根据评估与检测结果采取必要的控制措施并更新上市许可,并对企业制定亚硝胺杂质的控制策略提供了规范性要求,具体见表 1。

表 1 亚硝胺杂质控制相关指南

监管机构	指导原则	最新更新日期
CDE	《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》	2020 年 5 月
欧洲 EMA	人用药品亚硝胺评估指南	2024 年 7 月
欧洲 EMA	关于人用药品亚硝胺杂质第 5(3)条转介程序的 CHMP 意见:上市许可持有人/申请人问答	2024 年 7 月
美国 FDA	人用药品中亚硝胺杂质控制指导原则	2024 年 9 月
加拿大卫生局	药品中亚硝胺杂质:指南	2025 年 8 月

2 亚硝胺杂质风险评估与控制体系的构建

2.1 亚硝胺杂质风险评估要素 亚硝胺杂质产生的根本原因是胺类化合物与亚硝化试剂发生亚硝化反应[11],深入理解亚硝胺化合物合成途径对评估某一工艺中潜在的亚硝胺生成或引入风险有重要意义[12]。亚硝胺最常见的合成路线是含 NH 化合物与具有亲电特性的亚硝鎓离子载体([NO^+])发生亲电反应,反应机制见图 1。其中 NH 化合物包括胺类、(杂)酰胺、氨基甲酸酯、羟胺、羟胺醚、肼类、脲类、酰肼、脲类及胍类化合物。在上述 NH 化合物中,仲胺、羟胺类和肼类化合物具有较强的亲核性,反应活性较高,反应速率与其 pK_a 值、氮原子周围空间位阻等结构因素有关[12]。

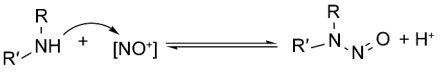


图 1 仲胺在酸性条件下的亚硝化反应机制

具有 α-H 的叔胺才能发生亚硝化反应,反应机制见图 2。叔胺的反应活性显著低于仲胺,氮原子上取代基的空间位阻是影响反应活性的主要因素。含富电子苄基作为烷基取代的叔胺反应活性明显增加。不对称叔胺可能生成多种亚硝胺化合物(见图 3),脱烷基区域选择性与反应体系的酸度相关[13]。

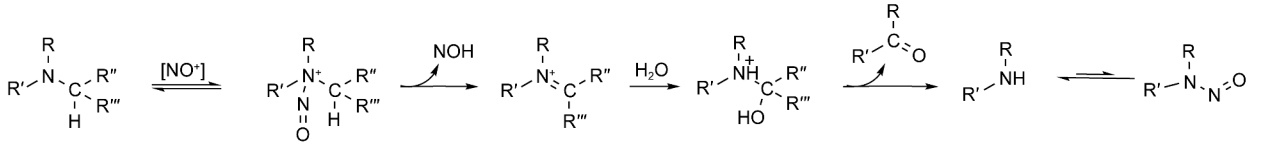


图 2 存在 α-H 的叔胺的亚硝化反应机制

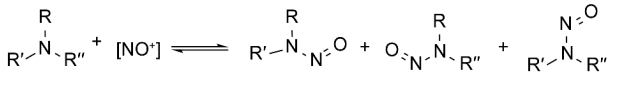


图 3 不对称叔胺的亚硝化反应产物

伯胺以及其他含有 NH_2 基团的化合物(如伯酰胺)无法生成稳定的亚硝胺,会迅速降解为芳基重氮盐(芳香胺)或脱氨产物,因此伯胺不属于亚硝胺杂质风险因素。除此之外还包括非经典合成路径,如硝胺还原、含氮官能团氧化(肼和脲)及有机金属试剂介导合成。

亚硝化反应的另一个底物是亚硝化试剂,活性亚硝化试剂主要有 5 类,分别是亚硝鎓离子、亚硝酰卤化物及其衍生物、烷基亚硝酸酯、三氧化二氮和四氧化二氮。[NO^+]载体/前体可根据 NO 基团来源的性质分为 5 类,分别为亚硝酸盐及酯类、亚硝酰卤型化合物与亚硝鎓盐、氮氧化物、有机硝基化合物和其他试剂。

药物中亚硝胺杂质产生最常见的机制为仲胺与亚硝酸在酸性条件下反应,亚硝酸(HNO_2)与亚硝鎓阳离子(NO^+)和三氧化二氮(N_2O_3)存在动态平衡关系,因此仲胺的亚硝化反应具有 pH 依赖性,通常在酸性条件(pH 3 ~ 4)下反应速率更快。在醛类化合物的催化下,亚硝化反应可在中性或碱性溶液中进行[12]。

上述反应生成亚硝胺的胺类化合物统称为前体胺,与前体胺发生亚硝化反应的试剂称为亚硝化试剂。因此亚硝胺杂质风险评估的要素包括前体胺、亚硝化试剂以及反应条件。首先评估前体胺的来源,表 2 列出了可作为前体胺的一些潜在来源,提示可从起始物料、溶剂、原料药本身及其相关杂质等方面进行评估。其次评估物料中亚硝

化试剂的来源，表 3 列出了亚硝化试剂的潜在来源，可从起始物料、溶剂和试剂、副产物、生产用水和辅料中的杂质、操作单元以及辅助操作等方面进行评估。

表 2 前体胺的来源[12]

前体胺（仲胺、叔胺或季胺盐）的来源	示例
起始物料	起始物料及其降解杂质为仲胺、叔胺或季胺盐等可亚硝化胺
溶剂中的痕量杂质	*N*,*N*-二甲基甲酰胺中的微量杂质二甲胺
叔胺的脱烷基化产物	三乙胺中的微量杂质二甲胺
酰胺的碱性水解物	*N*-甲基-4-氨基丁酸、*N*-甲基 2-吡咯烷酮
合成试剂的残留	二甲双胍中残留的合成试剂二甲胺
API 脱甲基或其他仲胺杂质	去甲基西地那非、5,6,7,8-四氢-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪
API	普萘洛尔、卡维地洛

表 3 亚硝化试剂的来源[12]

亚硝化试剂的来源	示例
合成试剂	亚硝酸、亚硝酸钠、硝基烷烃或亚硝酸酯
试剂或溶剂的污染	叠氮化钠中的亚硝酸盐、硝酸盐
副产物	还原条件下的亚硝酸、氧化条件下的羟胺、硝基甲烷重排成亚硝酸甲酯
制药用水中的杂质	氯胺、亚硝酸盐
操作单元	流化干燥过程中加热空气产生的 NO_x
工艺过程的辅助操作	活性炭能够固定空气中的二氧化氮气体并形成活性氮氧化物

最后评估反应条件、生产工艺以及生产环境是否促进亚硝化反应，亚硝化反应与 pH 值，温度以及催化剂有关。

2.2 限度的确定 对于具有阳性致癌数据或实际阈值的亚硝胺杂质，按 TD_{50} 线性外推的方法计算可接受摄入量（acceptable intake，AI）[14]。除少部分小分子亚硝胺杂质有阳性致癌数据或实际阈值证据外，多数 NDSRIs 缺乏致突变数据，亚硝胺杂质是“关注队列”的强效诱变致癌物，理论上具有潜在重大致癌风险，不适用于 ICH M7 推荐的基于毒理学关注阈值。针对这种情况，美国 FDA 提出的 3 种亚硝胺类杂质的限量值的计算方法[15]：① 使用致癌效力分类法计算 AI；② 使用特定化合物进行体内/体外测试；③ 使用具有可靠致癌数据的结构类似物进行交叉分析。对于上述方法均不适用的亚硝胺杂质，也可参考美国 FDA 指南，以 26.5 $ng\cdot d^{-1}$ 作为 AI 值。

美国 FDA 和欧洲 EMA 推荐的 AI 值均针对单一亚硝胺杂质，对于存在多个亚硝胺类杂质的情况，美国 FDA 指南[11]和欧洲 EMA 问答[16]中提供 2 种限度制订方法：① 总亚硝胺不超过确定的最强效亚硝胺推荐的可接受摄入量；② 每种亚硝胺含量占其限度的百分比之和不超过 100%，计算公式为 $\sum_i^n = \frac{x_i}{AI_i} \times 100\% \leqslant 100\%$，其中 x_i 是每种亚硝胺 i 的含量（以 ppm 计），AI_i 为每种亚硝胺 i 的 AI 限度（以 ppm 计）。

亚硝胺杂质的限度值拟定可参考其他基因毒性杂质，按式（1）由确定的可接受摄入量及药物每日最大使用量的比值进行计算。

杂质限度（ppm）=（可接受摄入量/$ng\cdot d^{-1}$）/（药物每日最大使用量/$mg\cdot d^{-1}$） 式（1）

2.3 亚硝胺杂质的确认性测试 在原料药工艺研究中采用“避免-控制-清除”的策略能够最大限度减少基因毒性杂质对最终产品的影响[17]。ICH M7 中介绍了原料药基因毒性杂质控制策略的 4 种方法，其中方法 4 为“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任何质量标准中）。虽然 ICH M7 方法 4 是证明潜在致突变杂质水平低于可接受限度的既定方法，但目前美国 FDA

和欧洲 EMA 关于亚硝胺杂质控制的指南中均暂未收载该方法,推荐确认性测试来证明亚硝胺杂质控制的合理性。Urquhart 等[18]通过多个案例中理论评估(清除率计算)和实验清除测定结果的对比,证明了清除计算在保守预测亚硝胺及其胺前体清除方面的适用性。低分子量亚硝胺可通过蒸馏分离出液体或结晶固体;N-NO 基团具有较大偶极矩,取代基的亲脂性差异使其在有机溶剂中极易溶解,水中具有一定的溶解性,可依据小分子亚硝胺的沸点和溶解特性制订适合的清除方式。高分子量亚硝胺(如 NDSRIs)的物理化学性质与 N-NO 基团以外的其他结构片段密切相关,这类亚硝胺杂质的清除措施制订需结合实际进行分析[17]。在充分考虑化合物的性质的基础上拟定合理的工艺控制措施,可通过清除率评估亚硝胺杂质残留风险,应结合清除验证试验或确认性测试证明亚硝胺杂质能够被有效控制。

在确定亚硝胺杂质的 AI 值后,建立专属、准确和灵敏的检测方法用于亚硝胺杂质的确认性测试,并从物料属性、生产工艺和生产环境等方面深入理解杂质产生的影响因素。美国 FDA 指南[11]中推荐至少使用 3 个代表性批次进行确认性测试,代表性批次的选择应该是建立在对亚硝胺杂质产生因素深入理解以及工艺控制良好的基础上。若 3 批样品测定结果差异较大,或为已上市后药品的风险监测或回顾性分析,则需适当增加确认性测试的批次以保证评估结果可靠。美国 FDA 指南[11]中提出了一种用于亚硝胺杂质产生可能性评估的方法,即通过针对性的强制降解试验(如提供促进亚硝化反应的条件)证明亚硝胺杂质是否产生。李庆等[19]将替格瑞洛与亚硝酸钠在酸性条件下进行反应,采用质谱和核磁对反应产物进行结构解析,证实了实际反应过程为亚硝酸钠与替格瑞洛的三元环反应,形成稳定的五元环结构,而无法反应生成亚硝胺类杂质,进而证明替格瑞洛中亚硝胺杂质风险极低。

若代表性批次样品的检测结果均低于限度的 10%,采用低风险控制策略,即一般过程控制,根据亚硝胺杂质产生的因素建立和验证工艺参数,检测方法和限度无须订入质量标准;若多批次检测结果不能保证始终低于限度的 10%,则采用中高风险控制策略,即严格过程控制:在充分工艺研究的基础上确定工艺参数范围并严格执行相关工艺规程,将检测方法订入质量标准并在药品有效期内进行监控;对于超出限度的亚硝胺杂质,应开展 OOS 调查,从影响亚硝胺杂质产生的因素方面进行深入研究,必要时启动变更,优化生产工艺。构建的亚硝胺杂质风险评估与控制体系见图 4。

2.4 亚硝胺杂质的过程控制要素 美国 FDA[11]和欧洲 EMA[16]均建议从源头避免亚硝胺杂质的形成,即在 API 和药品的生产工艺设计时就尽可能避免亚硝胺杂质的形成,CDE 发布的《化学药品中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》(2020 年第 1 号)也同样提出了“避免为主,控制为辅”的亚硝胺杂质控制策略。由于胺基官能团在原料药和天然分子中普遍存在,且作为起始物料、试剂和有机碱广泛应用于药物合成,完全避免胺的使用并不现实;亚硝化反应也是一种重要的合成方法,在某些情况下可能缺少替代方案。对药品中亚硝胺杂质产生的根本原因的理解有助于制订有效的风险控制策略。参考表 2、表 3 中列举的亚硝胺杂质产生的风险因素梳理出的控制要素。

对于原料药可从以下 3 个方面进行控制。① 控制物料质量:起始物料、中间体和溶剂(酰胺类溶剂和硝基烷烃)可能因合成工艺残留仲胺或亚硝化试剂;关注生产用水纯化工艺的选择以及活性炭的影响[20],审查供应链并制订验收标准能够有效控制此类风险。② 优化工艺过程:在合成路线开发过程中应优化生产工艺设计,以最大程度地减少或防止亚硝胺杂质的产生,避免使用前体胺或亚硝化试剂以及含有前体胺或亚硝化试剂的物料。缬沙坦中 NDMA 的产生,是由于叠氮钠的淬灭剂亚硝酸与反应溶剂 *N*,*N*-二甲基甲酰胺(*N*,*N*-dimethylformamide,DMF)中微量的二甲胺发生反应[17],通过优化工艺能够有效避免 NDMA 的产生;在亚硝化条件与前体胺不可避免地共存时,将该反应步骤置于生产工艺前端,并在后续工艺增加特定步骤清除形成的亚硝胺[17];对工艺参数(如 pH 值、温度、浓度、添加速率和处理时间)进行优化并加强过程控制能有效减少亚硝胺杂质的产生。③ 避免交叉污染:通用回收程序,不同来源物料的混合回收或共用设备均可能引起交叉污染,通过承包商资质认证和回收材料使用限制能够有效避免交叉污染。见图 5。

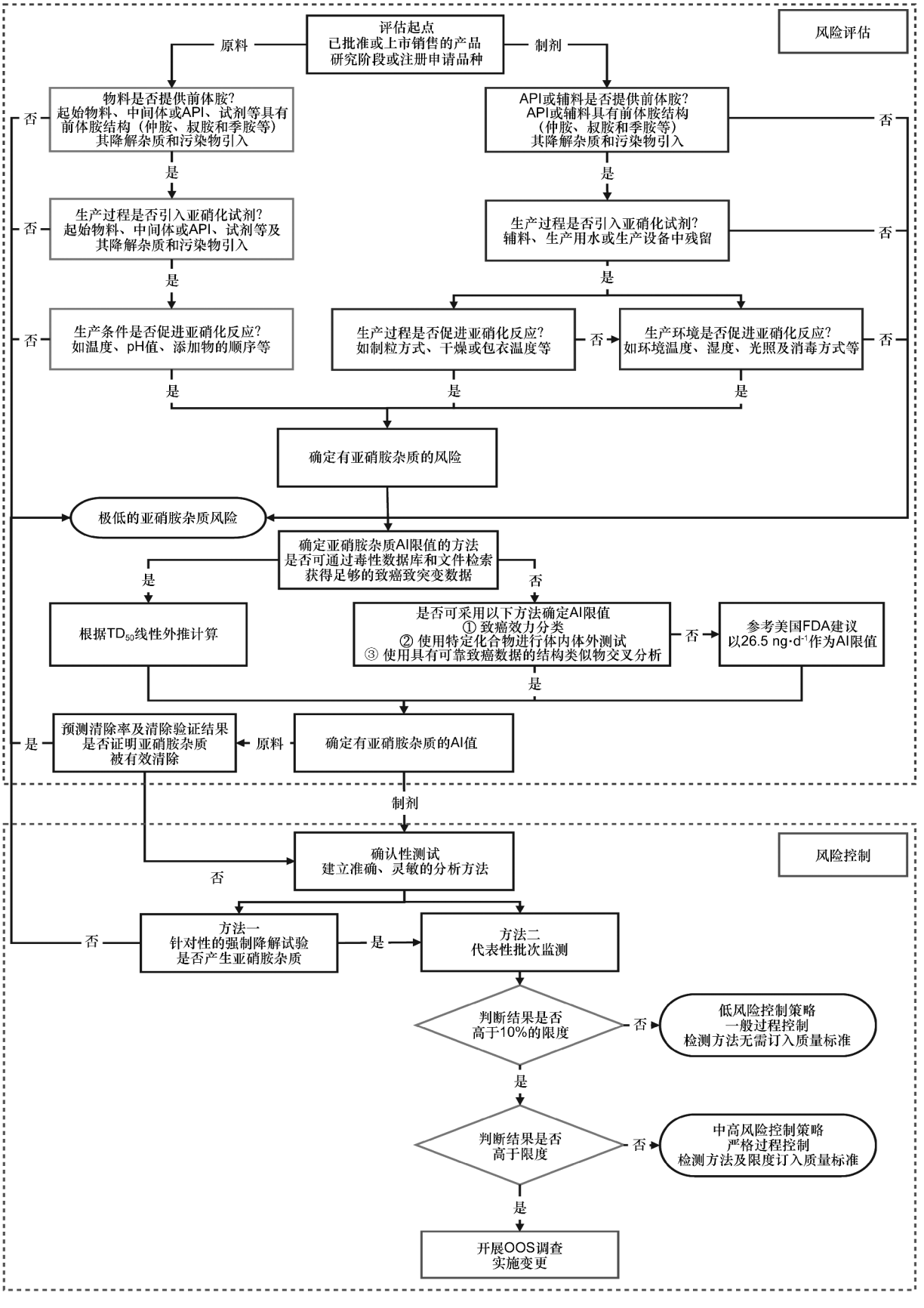


图 4　亚硝胺杂质风险评估与控制体系

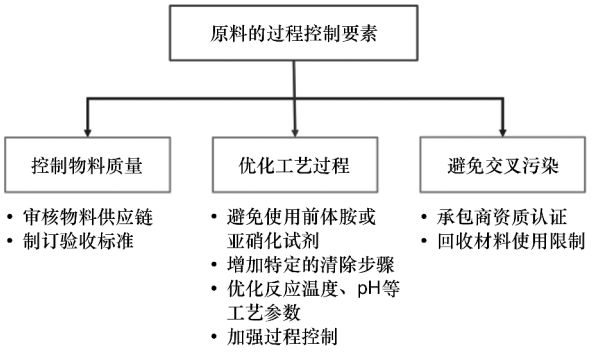


图 5 原料中亚硝胺杂质的控制要素

对于制剂可从以下 6 个方面进行控制。① 验收原料:原料中的亚硝胺杂质可能直接引入制剂,但对于 NDSRIs 原料引入的影响相对较小。② 审查辅料供应商:辅料中微量(ppm)水平的亚硝酸盐也可能导致亚硝胺杂质的生成[21]。不同辅料以及同一种辅料不同批次间的亚硝酸盐含量存在显著差异,与其生产过程中采用的原料来源、加工步骤(如滴定、氧化和漂白等工艺)以及工艺控制水平直接相关。辅料的常见杂质(如过氧化物杂质和甲醛)也可能促进亚硝胺杂质产生[21]。通过辅料供应商资质认定和制订辅料验收标准能够控制该类风险。③ 筛选处方组成:处方中添加抗氧剂和 pH 调节剂[22]能够抑制亚硝胺杂质产生。Shakleya 等[23]以布美他尼为模型药物,评估不同抗氧剂和 pH 调节剂对亚硝胺杂质产生的抑制作用。④ 优化工艺过程:评估湿法制粒工艺和流化床干燥等生产工艺的影响,必要时变更为其他制粒和干燥工艺[24];⑤ 控制生产环境:氧化物可能促进亚硝胺杂质的产生,因此需要避免臭氧环境消毒后残留。⑥ 选择包装贮存条件:避免使用含硝化纤维素的包装密封组件,或对可能接触材料的胺含量进行控制[25]。见图 6。

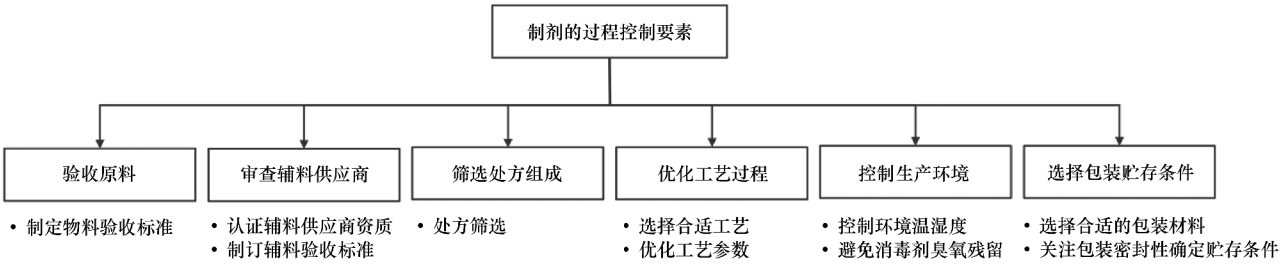


图 6 制剂中亚硝胺杂质的控制要素

3 亚硝胺杂质风险评估体系的应用

构建的亚硝胺杂质风险评估与控制体系成功应用于 2024 年国家药品抽检基因毒性杂质专项盐酸普萘洛尔片。下文将以盐酸普萘洛尔片为例,剖析 NPPN 风险评估过程,阐明其控制策略。

首先采用鱼骨分析图(见图 7)从盐酸普萘洛尔片的原料、辅料、工艺过程、包装材料和生产环境等方面分析前体胺和亚硝化试剂的引入以及制剂工艺对亚硝化反应的促进作用,从而评估亚硝胺杂质风险,梳理出亚硝胺杂质风险因素包括:① 原料盐酸普萘洛尔存在仲胺结构,易产生亚硝基杂质;② 生产用水和辅料用可能存在微量的亚硝酸盐;③ 湿法制粒和流化干燥可能促进亚硝化反应;④ 残留的环境消毒剂臭氧促进亚硝化反应,因此盐酸普萘洛尔片中确定存在产生 NPPN 的风险。

美国 FDA 和欧洲 EMA 依据致癌效力分类法公布了 NPPN 的可接受摄入量为 1 500 ng。参考盐酸普萘洛尔片说明书,每日最大使用量为 240 mg,按式(1)计算杂质限度为 6.25 ppm。

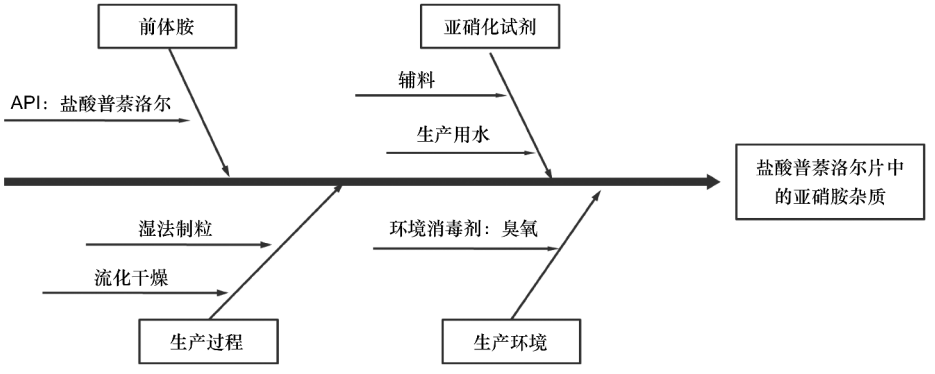


图 7 盐酸普萘洛尔片中亚硝胺风险因素的鱼骨分析图

第二步建立 NPPN 的 HPLC-MS/MS 测定法，并对各生产企业的抽检样品按 30% 的监测比例进行检测，其中企业 C 有 1 批次样品超过拟定限度，因此对其抽检样品进行全面监测，结果显示（见图 8）6 个生产企业的 77 批次样品中，除企业 C 的 2 批超过拟定限度，其他生产企业样品均小于拟定限度，但检测结果普遍高于限度的 10%，因此需采用中高风险的控制策略，即订入质量标准。

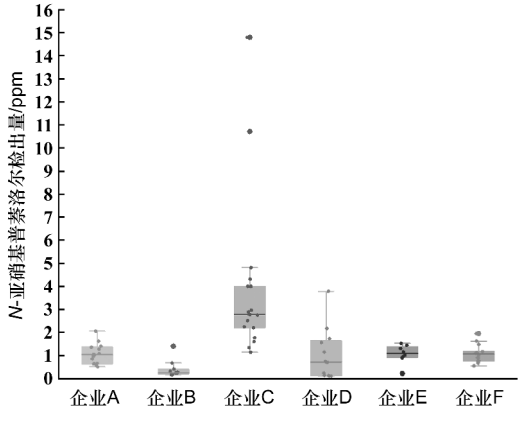


图 8 不同生产企业的盐酸普萘洛尔片中 NPPN 监测结果的箱式图

采用 Kruskal-Wallis 秩和检验对不同企业样品中 NPPN 的含量进行组间比较，结果显示各组总体分布存在显著差异（$\alpha = 0.05$，$P = 0.001$）。事后两两比较（采用 Bonferroni 校正）结果表明企业 C 的样品中 NPPN 的检出量显著高于其余 5 家企业，而其余 5 家企业彼此之间无显著差异，提示企业 C 样品处方工艺存在风险隐患，应进行 OOS 调查，明确杂质产生的根本原因并拟定控制措施，必要时实施变更。

第三步是制订亚硝胺杂质的控制措施，从原料引入、辅料影响、工艺以及贮存影响 4 个方面探究影响 NPPN 产生的主要因素，从而制订合理有效的控制措施。① 原料引入：对各企业征集原料并对 NPPN 进行检测，结果显示原料中 NPPN 的检出量均 <0.2 ppm，远低于制剂中的检出量，提示原料引入风险较低。② 辅料的影响：对各辅料中的亚硝酸盐进行检测，糊精、硬脂酸和羟丙甲纤维素中检出了亚硝酸盐，其他辅料中均未检出（检测限为 0.05 ppm）。将主药与单一辅料按各企业制剂处方比例混合后进行原辅料相容性试验，在温度（60 ± 2）℃、相对湿度 RH（40 ± 5）% 条件下放置 10 d 后，磷酸氢钙中的 NPPN 显著增加，糊精和硬脂酸中增加较明显，甘露醇中略有增加，其他辅料均无明显变化。辅料中亚硝酸盐的检出量并不能完全解释原辅料相容性试验结果，说明还有其他因素影响 NPPN 的产生。磷酸氢钙样品存在明显的重量减失，分析发现其结构中具有两分子结晶水，推断 60 ℃的高温使其结晶水释放，从而加速了 NPPN 的产生。为了进一步验证水分对 NPPN 产生的促进作用，在温度（60 ± 2）℃、相对湿度（75 ± 5）% 进行原辅料相容性试验，结果显示样品中 NPPN 检出量普遍增加，而磷酸氢钙样品中检出量的增幅明显低于糊精、明胶和蔗糖等吸湿性较强的辅料，提示水分是促进 NPPN 产生的重要因素。③ 工艺过程：影响因素试验结果表明高温和光照条件下，NPPN 检出量明显增加，提示重点关注现有生产工艺过程中湿法制粒、压片步骤的温湿度等参数的设置，物料转运及贮存环境温湿度和光照的控制。④ 贮存条件：加速试验［试验条件（40 ± 2）℃、相对湿度（75 ± 5）%］结果显示各生产企业样品中 NPPN 检出量均缓慢增加，提示关注包装材质的隔热性能。

依据上述研究结果,提出如下控制措施:① 筛选处方并加强辅料供应商审查;② 优化生产工艺,加强过程控制;③ 优化包装方式,筛选包装材料。

讨　论

基于亚硝胺类杂质产生机制的剖析,系统阐述了原料和制剂中亚硝胺产生的潜在风险因素,结合相关指导原则构建了化学药品中亚硝胺杂质的全生命周期风险评估与控制体系。该体系在监管层面可为风险分级管理提供科学依据,支持监管部门采取差异化应对措施,如风险预警、产品召回等决策,并促进行业对亚硝胺杂质认知的提升;在企业层面可为制药企业提供精准控制技术方案,指导其建立从原料采购到生产工艺的全过程质量控制策略。但需要注意的是,本体系中的评估要素和控制要素会随亚硝胺杂质产生机制研究的深入而产生新的变化。本研究实现了风险评估科学化、控制措施精准化和监管决策系统化的有机结合,为保障药品安全提供了系统的技术支撑和方法学参考。

[参 考 文 献]

[1] THRESHER A, FOSTER R, PONTING DJ, *et al*. Are all nitrosamines concerning A review of mutagenicity and carcinogenicity data[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2020, 116: 104749.

[2] DOBO KL, KENYON MO, DIRAT O, *et al*. Practical and science-based strategy for establishing acceptable intakes for drug product N-nitrosamine impurities[J]. *Chem Res Toxicol*, 2022, 35(3): 475 – 489.

[3] FDA. Statement from Janet Woodcock, M. D., director of FDA's Center for Drug Evaluation and Research, on impurities found in diabetes drugs outside the U. S. [EB/OL]. [2022 – 12 – 18]. http://www. fda. gov/news-eventment-janet-woodcock-md-director-fdas-center-drug-evaluation-and-research-impurities-found.

[4] FDA. Statement alerting patients and health care professionals of NDMA found in samples of ranitidine[EB/OL]. [2022 – 12 – 18]. http://www. fda. gov/news-events/press-announcements/statement-alerting-patients-and-health-care-professionals-ndma-found-samples-ranitidine.

[5] FDA. Announces Voluntary Recall of Several Medicines Containing Valsartan Following Detection of an Impurity[EB/OL]. [2022 – 12 – 18]. http://www. fda. gov/news-events/press-announcements/fda-announces-voluntary-recall-several-medicines-containing-valsartan-following-detection-impurity.

[6] World Health Organization. Information Note Nitrosamine impurities[EB/OL]. [2023 – 12 – 26]. https://www. who. int/news/item/20-11-2019-information-note-nitrosamine-impurities.

[7] BURNS MJ, PONTING DJ, FOSTER RS, *et al*. Revisiting the landscape of potential small and drug substance related nitrosamines in pharmaceuticals[J]. *J Pharm Sci*, 2023, 112(12): 3005 – 3011.

[8] FDA. Pfizer Voluntary Nationwide Recall of Lots of Accuretic (Quinapril HCl/Hydrochlorothiazide), Quinapril and Hydrochlorothiazide Tablets, and Quinapril HCl/Hydrochlorothiazide Tablets Due to N-Nitroso-Quinapril Content[EB/OL]. [2022 – 02 – 21]. https://www. fda. gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/pfizer-voluntary-nationwide-recall-lots-accuretic-quinapril-hclhydrochlorothiazide-quinapril-and.

[9] FDA. Pfizer Expands Voluntary Nationwide Recall to include Four Additional Lots of CHANTIX® (varenicline) Tablets Due to N-Nitroso Varenicline Content[EB/OL]. [2021 – 08 – 16]. https://www. fda. gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/pfizer-expands-voluntary-nationwide-recall-include-four-additional-lots-chantixr-varenicline-tablets.

[10] FDA. FDA works to avoid shortage of sitagliptin following detection of nitrosamine impurity[EB/OL]. [2022 – 09 – 08]. https://www. fda. gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-works-avoid-shortage-sitagliptin-following-detection-nitrosamine-impurity.

[11] FDA. Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs[EB/OL]. [2024 – 09 – 05]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/control-nitrosamine-impurities-human-drugs.

[12] HORNE S, VERA MD, NAGAVELLI LR, *et al*. Regulatory experiences with root causes and risk factors for nitrosamine impurities in pharmaceuticals[J]. *J Pharm Sci*, 2023, 112(5): 1166 – 1182.

[13] LÓPEZ-RODRÍGUEZ R, MCMANUS JA, MURPHY NS, *et al*. Pathways for N-nitroso compound formation: secondary amines and beyond[J]. *Org Process Res Dev*, 2020, 24(9): 1558 – 1585.

[14] ICH. M7(R2). Assessment and Control of DNA Reactive(Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk[S]. 2021.

[15] FDA. Determining Recommended Acceptable Intake Limits for N-nitrosamine Impurities in Pharmaceuticals: Development and Application of the Carcinogenic Potency Categorization Approach [EB/OL]. [2025 – 01 – 10]. https://www. fda. gov/drugs/spotlight-cder-science/determining-recommended-acceptable-intake-limits-n-nitrosamine-impurities-pharmaceuticals.

[16] 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[S]. 2020.

[17] 张霁, 张英俊, 聂飚. 药物研发中基因毒性杂质的控制策略与方法探索进展[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(9): 1203 – 1220.

[18] URQUHART MW, BURNS MJ, BERNARDONI F, *et al*. Industrial case studies demonstrating applicability of ICH M7 control options 3 and 4 for nitrosamine control[J]. *Org Process Res Dev*, 2025, 29(4): 1152 – 1167.

[19] 李庆, 王琳, 熊学武, 等. 替格瑞洛中亚硝胺类杂质研究[J]. 中国药物化学杂志, 2023, 33(4): 260 – 269.

[20] PADHYE L, WANG P, KARANFIL T, *et al*. Unexpected role of activated carbon in promoting transformation of secondary amines to N-nitrosamines[J]. *Environ Sci Technol*, 2010, 44(11): 4161 – 4168.

[21] WU YM, LEVONS J, NARANG AS, *et al*. Reactive impurities in excipients: profiling, identification and mitigation of drug-excipient incompatibility[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011, 12(4): 1248 – 1263.

[22] HAO GG, HU R, WANG XQ, *et al*. N-Nitrosodimethylamine formation in metformin hydrochloride sustained-release tablets: Effects of metformin and hypromellose used in drug product formulation[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 222: 115066.

[23] SHAKLEYA D, ASMELASH B, ALAYOUBI A, *et al*. Bumetanide as a model NDSRI substrate: N-nitrosobumetanide impurity formation and its inhibition in bumetanide tablets[J]. *J Pharm Sci*, 2023, 112(12): 3075 – 3087.

[24] MOSER J, ASHWORTH IW, HARRIS L, *et al*. N-nitrosamine formation in pharmaceutical solid drug products: experimental observations[J]. *J Pharm Sci*, 2023, 112(5): 1255 – 1267.

[25] GOLOB N, GRAHEK R, ROSS M, *et al*. Nitrocellulose blister material as a source of N-nitrosamine contamination of pharmaceutical drug products[J]. *Int J Pharm*, 2022, 618: 121687.

编辑:毕晓帆/接受日期:2025 – 12 – 01