

**化学合成寡核苷酸药物（创新药）
药学研究技术指导原则
（征求意见稿）**

国家药品监督管理局药品审评中心

2025年9月

目录

<u>一、前言</u>	1
<u>二、总体考虑</u>	1
<u>三、原料药</u>	3
<u>四、制剂</u>	19
<u>五、药学可比性研究</u>	24
<u>六、参考文献</u>	26

1 一、前言

2 化学合成寡核苷酸 (Oligonucleotide) 药物是指通过化学
3 合成方法制备的具有特定序列和功能的短链核酸药物，通常
4 由十几个至几十个或更长的核苷酸 (nt) 构成，制备工艺包
5 括固相合成，液相合成以及酶催化片段连接合成等方法。这
6 类药物通常通过化学修饰技术 (如骨架修饰、核糖修饰、碱
7 基修饰等) 和/或递送系统 (如脂质纳米粒等) 提高其体内稳
8 定性或靶向性等。

9 寡核苷酸药物为近年来备受关注的研发领域，但 ICH 等
10 国际通用技术指南并未完全将其纳入适用范围。为进一步推
11 动寡核苷酸药物行业的发展，助力该类药物的开发与评价，
12 特制定本指导原则。

13 本指导原则适用于反义寡核苷酸 (Antisense
14 oligonucleotide, ASO), 小干扰 RNA (Small interfering RNA,
15 siRNA)、核酸适配体 (Aptamer) 等化学合成寡核苷酸类创
16 新药物的上市申请，不包括 mRNA 等生物合成的核酸药物、
17 抗体偶联核酸药物等。对于寡核苷酸药物的临床试验申请及
18 仿制药申请，可参考本指导原则相关内容。

19 本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认知，随
20 着科学理论的发展、技术经验的积累以及相关法规的完善，
21 本指导原则的相关内容将不断修订与更新。

22 二、总体考虑

23 寡核苷酸药物的研发应遵循常规小分子化学药物开发
24 基本原则，重点结合该类产品的结构和工艺特点，进行针对
25 性的研究和控制。可参考 ICHQ8、Q9、Q10、Q11 等指导原
26 则，运用质量风险管理理念，科学利用风险评估工具，从产
27 品设计、生产工艺到质量控制等多维度进行风险识别和评估，
28 制定与产品相适应的整体风险控制策略，并在整个产品生命
29 周期中持续进行药学方面的评估和研究，基于科学和数据不
30 断完善生命周期管理。

31 相比于小分子化学药物，寡核苷酸药物结构复杂、杂质
32 种类多且结构与目标产物类似、精制纯化以及分析手段有限，
33 因此仅对寡核苷酸药物进行质量控制难度较大，建议从合成的
34 早期步骤（如核苷亚磷酰胺起始原料、单链核酸中间产品
35 等）开展充分研究和控制，并根据后续工艺参数控制、杂质
36 清除转化研究以及终产品质量控制，建立整体的质量控制策
37 略。

38 寡核苷酸药物类型众多，其结构特点有所不同。应针对
39 不同类型产品制定针对性的研发策略，如对于采用功能性化
40 学修饰的寡核苷酸类产品应重点对偶联物、偶联位点等进行
41 研究和控制；对于采用载体递送系统的寡核苷酸药物，则应
42 对递送系统（载体）选择、递送效率、微观形态表征及其他
43 制剂关键质量属性等方面进行全面研究，制定合理控制策略。

44 基于寡核苷酸基本组成单元的结构相似性和生产工艺
45 （如固相合成）的平台技术成熟性，寡核苷酸药物的生产、
46 质量控制及稳定性方面的先验知识和平台经验对该类产品的
47 的开发具有一定的借鉴意义，因此可用于产品的风险评估、
48 不同临床阶段药学控制以及可比性研究等。

49 寡核苷酸类产品质量受原料药起始原料、生产工艺、生
50 产设备、批量、制剂处方工艺等影响，开展关键临床试验后，
51 建议尽量避免不必要的药学重大变更，建议商业化生产拟定的
52 的原料药生产工艺、制剂处方工艺等与代表性批次（如关键
53 临床试验批）保持一致。

54 考虑到寡核苷酸药物开发难度相对较大，并且新技术、
55 新方法的应用带来新的挑战，鼓励注册申请人针对化学合成
56 寡核苷酸药物开发中的重要技术问题尽早与药品监管部门
57 积极沟通和交流。

58 三、原料药

59 （一）物料控制

60 1. 起始原料

61 应参考 ICH Q11 及其相关问答合理指定起始原料，并全
62 面论述选择合理性。常见的起始原料包括核苷亚磷酰胺（含
63 预加载核苷酸的固体载体）、非核苷酸部分。应尽量避免使用
64 人或动物源的物料作为起始原料，如必须使用时，应说明传
65 染性海绵状脑病（TSE/BSE）的安全性。

66 1.1 核苷亚磷酰胺

67 根据寡核苷酸药物的基本组成单元，通常选择受保护的
68 核苷亚磷酰胺作为起始原料。应与供应商接洽，充分了解起
69 始原料的生产工艺和相关控制信息，开展起始原料的杂质研
70 究，结合各类杂质在后续化学反应中的传递、转化和清除情
71 况，评估杂质对终产品质量的影响，制定合理的控制策略。
72 起始原料质量控制项目通常包括：性状、鉴别、含量、杂质、
73 纯度、水分和残留溶剂。起始原料中部分杂质（如可参与核
74 酸链反应循环的杂质）通常会在最终的原料药中持续存在，
75 且下游处理和纯化步骤通常无法完全去除，因此应对此类杂
76 质重点关注并在起始原料的质量标准中进行充分控制。

77 预加载一个核苷酸的固体载体应作为一个整体被指定
78 为起始原料，结合负载前游离核苷酸、固体载体的质控信息，
79 建立合理的质控策略。

80 1.2 非核苷酸起始原料

81 用于寡核苷酸的偶联或衍生的非核苷酸部分，如 N-乙酰
82 半乳糖胺（GalNAc），聚乙二醇（PEG）、脂肪酸等，如证明
83 合理亦可以作为起始原料，应关注其质量对终产品关键质量
84 属性的影响，制定合理的质量控制策略。常见质量控制项目
85 包括性状、鉴别、水分、残留溶剂、含量、杂质和纯度等，
86 建议对可参与后续反应的杂质进行风险评估和研究，制定相
87 应的杂质限度。

88 偶联的非核苷酸部分(如 GalNAc)一般具有重要的递送
89 功能。部分创新的 GalNAc 产品并非化学市售品,一般具有
90 结构复杂、合成步骤多、质控难度大等特点,其引入的杂质
91 与核苷酸偶联的风险较高。因此,不宜作为起始原料进行控
92 制,建议进一步考虑前延生产工艺。

93 2. 其他物料

94 寡核苷酸生产所使用的其他物料,包括固体载体、溶剂
95 和色谱填料等,应根据其在生产过程中的作用及对终产品质
96 量的影响,制定合理的质量控制策略。对物料中可参与或影
97 响核酸合成反应的其他物质或成分,应重点研究并合理控制,
98 如偶联步骤中使用物料的残留水分。

99 固体载体(非预负载载体)是固相合成法的关键物料,
100 常用的载体包括控制孔径玻璃(CPG)和聚苯乙烯树脂。载
101 体的质量控制指标主要包括性状、鉴别、粒径和负载量等。
102 对于 CPG 需检查孔径;对于聚苯乙烯树脂,需关注孔径、膨
103 胀体积等。

104 (二) 生产工艺

105 1. 合成工艺

106 1.1 固相合成工艺

107 寡核苷酸通常采用固相合成工艺制备,通过自动合成仪
108 在功能化固体载体上进行,典型工艺过程为以固体载体上相
109 应基团(羟基或预连接第一个核苷酸的羟基)为起始,经脱

110 保护、偶联、氧化/硫代、封端（如适用）等 3~4 个步骤的
111 多次循环，将核苷亚磷酰胺单体沿 3'至 5'方向逐一连接至寡
112 核苷酸链上，通过脱保护反应（如氨解反应）将核酸链与固
113 相载体切除并脱除保护基团，后进一步纯化得到单链核酸。
114 应对单个循环的每个步骤进行详细描述，包括起始原料、试
115 剂、溶剂、反应时间、温度、当量和浓度等。

116 对于双链核酸还涉及两条单链核酸退火步骤，应对退火
117 条件进行详细描述（例如缓冲液组成、时间、温度）。对于制
118 备偶联或衍生修饰的寡核苷酸（如 GalNAc 修饰产品），偶联
119 的分子可以在固相合成前、固相合成完成后、纯化后引入，
120 一般应提供偶联步骤的详细工艺描述（例如温度、时间、偶
121 联试剂用量等）。

122 合成寡核苷酸通常使用色谱等技术进行纯化，应明确关
123 于组分收集、组分合并策略，建立纯化步骤中过程控制标准；
124 如涉及副馏分的纯化，需制定相应的纯化策略，至少包括纳
125 入组分的要求、纯化条件及组分合并的要求等。需确定相关
126 组分的收集、合并策略。根据 GMP 相关要求，特别注意应
127 采取适当措施防止交叉污染；色谱柱性能（如有效塔板数、
128 分离度、堵塞情况）需符合要求，建议在重复使用前进行必
129 要的性能控制。

130 如果存在任何浓缩步骤（例如真空蒸发、超滤），则需
131 要对其进行描述，提供具体的工艺参数和控制要求。

132 原料药生产批量受固相合成、分离纯化设备影响较大，
133 需注意合理选择生产设备。基于设备原因需进行亚批拆分或
134 合并操作的，应明确原则以及拆分或合批后批次产品的质量
135 标准。

136 现阶段，原料药以固体（冻干粉）形式存在是常见的可
137 接受做法。建议慎重开发溶液形式存在的原料药用于制剂生
138 产，如确需选择，请提前与监管机构进行沟通确认。

139 1.2 其他生产工艺

140 采用其他核酸制备技术，如液相合成、酶催化片段连
141 接合成等工艺时，需高度关注额外引入的风险（如偶联效
142 率下降、酶反应引入不同类型杂质等），制定充分的控制策
143 略。

144 2. 关键步骤和中间产品

145 应根据 ICH Q9 ~ 11 进行生产工艺的开发，合理界定关
146 键工艺步骤及工艺参数、明确过程控制和中间产品控制。

147 2.1 关键步骤

148 根据固相合成法特点，关键步骤可能包括脱保护、偶联、
149 氧化/硫化、封端、裂解、分离纯化、浓缩、干燥、退火（如
150 适用）和冻干（如适用）等。

151 2.2 中间产品

152 通常中间产品可能是裂解后粗品、浓缩液、偶联前的寡
153 核苷酸、退火前的单链核酸、冻干前的样品等。需合理制定

154 中间产品内控标准，如鉴别、含量、纯度/杂质等质控指标，
155 应建立合理的分析方法，并对分析方法进行必要的验证。

156 如涉及采用液相合成、酶催化片段连接等其他工艺，可
157 将所涉及短核酸片段作为中间产品进行控制，控制项目包括
158 鉴别、水分、立体构型、纯度、杂质（如可能引入到终产品
159 中的其他截短或缺失片段）、含量测定等。

160 建议对中间产品的贮藏条件和暂存时限进行研究，应有
161 稳定性数据支持。

162 3.工艺验证

163 寡核苷酸的工艺验证流程遵循一般化学合成药物的工
164 艺验证原则。注意对于重复使用的物料（如制备色谱柱）应
165 进行适当的验证。

166 建议采用商业生产规模进行工艺验证。

167 4.生产工艺开发

168 通过工艺风险评估和工艺特性研究，明确工艺参数对产
169 品质量的影响，制定相应的控制措施。

170 固相合成工艺采用相对固定的合成设备和工艺过程，应
171 结合目标产品结构特点、关键质量属性等，合理设定工艺参
172 数，如投料量、反应时间、溶剂用量等，以及相应的过程控
173 制要求。

174 在对原料药杂质谱全面评估和分析的基础上，结合生产
175 设备能力，确定分离纯化工艺及控制参数。

176 论证合理的情况下，可参考相近产品（如核酸修饰、核
177 酸链长度等相似的产品）的先验知识。

178 （三）特性鉴定

179 1. 结构确证

180 应通过多种技术手段，如质谱（MS）、核磁共振波谱
181 （NMR）、紫外光谱（UV）、红外光谱（IR）和圆二色谱（CD）
182 等，对寡核苷酸结构和基本特性进行全面表征，包括对一级
183 和/或高级结构的确认。

184 寡核苷酸一级结构应重点确认核苷酸序列，包括明确碱
185 基、核糖和骨架的组成及核苷酸的连接位点、反离子等。常
186 见的表征方法包括：可采用高分辨质谱或质谱联用技术（如
187 LC-MS/MS、酶解 LC-MS、失效序列分析等）测定寡核苷酸
188 的分子量和序列。可采用一维和二维核磁共振波谱（包括 ^{31}P -
189 NMR、 ^{19}F -NMR）研究碱基、核糖和骨架的组成及连接位点。

190 另外，可采用元素分析测定碳、氢、氮、氧、硫等元素的含
191 量；可通过离子色谱法、原子吸收光谱法（火焰光度法等）
192 或电感耦合等离子体发射光谱法等对反离子（如钠离子）进
193 行定量确认。

194 寡核苷酸的高级结构一般包括二级结构（如可能存在的
195 双螺旋结构）和三级结构（如适配体的空间结构）。常见的表
196 征方法包括：可采用变性/非变性色谱法以对单链或双链寡核
197 苷酸进行区分，可采用紫外光谱法测定解链温度（ T_m 值）等；

198 可采用圆二色谱法、傅里叶变换红外光谱法、核磁共振波谱
199 法 (siRNA 关注亚氨基 $^1\text{H-NMR}$)、沉降速率-分析超速离心
200 (SV-AUC) 等进行高级结构表征。对于具有三级结构的核酸，
201 可采用近紫外圆二色谱法进行三级结构表征。

202 需关注寡核苷酸的立体化学，包括亚磷酰胺起始原料的
203 立体化学纯度，以及在寡核苷酸合成过程中潜在的异构化倾
204 向。对于具有硫代磷酸二酯键的寡核苷酸，由于键合的磷原
205 子是手性的，在偶联反应中会产生 2^n 个非对映异构体的混合
206 物 (n 为硫代磷酸酯键的数目)，需要评估非对映异构体的分
207 布及其重现性，同时关注立体化学对生物/药理活性的影响。
208 常用的方法包括 $^{31}\text{P-NMR}$ 、阴离子交换色谱法、离子对反相
209 色谱法 (IP-RP-HPLC)、圆二色谱法等。

210 部分具有偶联结构的原料药，如完整原料药结构确证困
211 难，可对偶联和非偶联部分分别进行结构表征，比较偶联和
212 非偶联部分的结构，并证明偶联位点的专属性。

213 对于 siRNA 等双链寡核苷酸，应分别对单链 (正义链、
214 反义链) 以及双链进行特性鉴定。

215 2. 理化性质

216 包括但不限于性状、含水量、溶液的 pH 值、摩尔吸光
217 系数、在不同介质中的溶解度、吸湿性、等电点、固体形态、
218 热力学性质 (TGA、DSC) 等。双链寡核苷酸、适配体应关
219 注解链温度 (T_m 值)。

220 (四) 质量研究与控制

221 1. 质量标准

222 可参照 ICH Q6A 的基本原则，根据寡核苷酸的制备工
223 艺、结构特点、理化性质合理设定质量研究项目。

224 原料药质量研究和控制的典型项目一般包含性状、鉴别、
225 酸碱度、纯度和杂质、反离子含量、水分、细菌内毒素、微
226 生物限度、含量等。

227 应对残留溶剂、元素杂质进行风险评估，制定合理的控
228 制策略。建议参考国内外相关技术要求开展致突变杂质的风
229 险评估和研究。必要时在质量标准中进行控制。

230 对于双链寡核苷酸，质量标准中通常包含针对双链特征
231 的鉴别项，如非变性 HPLC、解链温度等。建议同时使用非
232 变性方法（以测量单链残留量）和变性方法测试纯度。对于
233 适配体等具有高级结构的产品，应进行生物活性测试。

234 2. 分析方法

235 2.1 分析方法开发

236 对于水分、细菌内毒素和微生物限度等常规检测项目，
237 应参考国内外药典的分析方法进行测定。针对寡核苷酸的结
238 构和理化特性的特殊检测项目应建立特定的分析方法。

239 鉴别

240 建议采用不同原理的方法进行鉴别。常见的鉴别如下：

241 分子量鉴别：实测分子量应与理论分子量一致。通常采

242 用液相色谱-质谱法、高分辨质谱法等。

243 序列鉴别：核苷酸序列应与理论序列一致。可采用质谱
244 方法对碎片序列进行分析、失败序列分析、解链温度测定（如
245 适用）等，确证核酸整体序列。

246 保留时间鉴别：采用 HPLC 法对比供试品溶液与对照品
247 溶液主峰保留时间，应保持一致。

248 此外，还可对反离子、特殊核酸修饰（如 2'F 取代）进
249 行相应鉴别。

250 对于双链寡核苷酸，应分别证明单链与理论结构保持一
251 致，并证明单链结合状态。可考虑采用非变性色谱法、解链
252 温度确定结合状态、通过质谱法确定两条单链分子量。

253 具有高级结构的寡核苷酸类产品（如适配体），还应关注
254 高级结构的鉴别。

255 纯度/杂质

256 由于部分寡核苷酸有关物质的结构、性质与主成分较为
257 相似，杂质分离难度较大。建议开发合适的分析方法尽可能
258 实现杂质分离。推荐采用多种不同分离原理的分析方法，包
259 括离子对反相液相色谱（IP-RP-HPLC）、离子交换色谱（IEX-
260 HPLC）、液质联用（LC-MS）、毛细管电泳（CE）、分子排阻
261 法（SEC）、亲水作用色谱法（HILIC）等，以及不同检测器
262 的分析方法（如 UV 和 MS 检测器）进行杂质检测，以改善
263 杂质的分离、鉴定和定量。

264 建议选择富含杂质的样品进行杂质分析方法的研究和
265 确认，如纯化步骤前的粗品、不同工艺参数/纯化条件制备的
266 样品、强制破坏或影响因素及加速试验样品等。

267 若经充分研究仍有无法有效分离的寡核苷酸杂质，可考
268 虑按保留时间等对杂质进行分组控制，此时应充分论证分组
269 的合理性，并尽量确定各分组内杂质的组成。对于双链寡核
270 苷酸，一般采用非变性方法（如非变性 IP-RP-HPLC、SEC、
271 CE 等）对单链的残余量进行分析和控制。采用变性方法考察
272 纯度和杂质。

273 立体异构体

274 立体异构体检查可考虑采用的检测方法包括色谱法（如
275 阴离子色谱法、离子对反相色谱法和亲水作用色谱法）、离子
276 淌度质谱法、毛细管电泳法、核磁共振技术、圆二色谱法和
277 基于酶裂解反应的检测方法等。如无法实现所有异构体的分
278 离，需评估立体异构体的分布，必要时进行合理控制。

279 含量测定

280 应明确规定含量测定及其计算方法。含量可通过紫外或
281 基于重量的分析法进行研究，并通过与已知纯度和浓度的对
282 照品比较法或吸收系数法进行定量。建议采用专属性较强的
283 检测方法，如 HPLC 法。

284 冻干的寡核苷酸原料药建议含量以无水物标示。

285 体外生物活性

286 对于反义寡核苷酸或小干扰 RNA 等结构相对简单的核
287 酸，其生物活性通常由其序列结构控制，建议/鼓励开发体外
288 生物活性方法，用于可比性等研究。一般无需将体外生物活
289 性纳入常规放行检测项。

290 对于适配体或具有三维结构部分偶联的寡核苷酸，其作
291 用机制为依靠独特的空间结构、特异性结合靶分子而发挥生
292 物活性，通常需建立细胞的分析和其他生物分析方法进行体
293 外生物学活性测定和控制。

294 如需进行化学修饰对生物靶标的结合活性检测，可考虑
295 采用表面等离子共振 (SPR)、酶联免疫吸附试验 (ELISA)、
296 荧光偏振 (FP) 等方法进行研究。

297 2. 分析方法验证

298 原料药质量控制的分析方法应按照 ICH Q2、Q14 及国内
299 外药典等相关指导原则进行分析方法验证。验证时关注分析
300 方法的专属性，提供证明寡核苷酸相关杂质与主峰有效分离
301 的色谱图和相关质谱数据。应加强方法的耐用性考察，充分
302 考虑色谱柱、溶剂、色谱条件等的影响。分析方法的灵敏度
303 应满足检测需要，例如，通常情况下，质谱法检测寡核苷酸
304 相关杂质时，分析方法灵敏度应达到 0.1%~0.3%。

305 3. 杂质分析

306 建议结合起始原料和寡核苷酸的合成工艺、中间产品和
307 目标产物的降解途径及降解产物研究，全面分析和表征寡核

308 苷酸的杂质。考虑到相关杂质结构复杂且与目标产物结构相
 309 似、现有分析技术有限等，建议结合先验知识以及文献资料
 310 等，尽可能对主要存在的寡核苷酸杂质进行表征。

311 3.1 寡核苷酸相关杂质

312 寡核苷酸相关杂质的来源主要包括起始原料引入、生产
 313 过程中形成、生产或贮藏过程中降解产生。下表列举了常见
 314 的寡核苷酸相关杂质及其可能的来源：

315 表 寡核苷酸相关杂质的类别及来源

类别	描述	可能来源
缺失序列/截短序列杂质	缺少一个或多个核苷酸，常描述为 n-x 杂质，如 n-1 杂质、n-2 杂质等。	工艺、降解
插入序列/加长序列杂质	在一个或多个额外的核苷酸，常描述为 n+x 杂质，常见 n+1 杂质等。	工艺
核苷间连接结构相关杂质	核苷间连接基团相关的杂质，常见为硫代磷酸二酯（PS）寡核苷酸中的磷酸二酯（PO）杂质或双硫代磷酸二酯杂质等。	起始原料/试剂、工艺、降解
糖环相关杂质	无碱基杂质；糖环 2'羟基烷基化或烷氧化烷基化杂质；糖环间 2'-5'、3'-3'或 5'-5'连接的位置异构体杂质等。	起始原料/试剂、工艺
碱基相关杂质	无碱基杂质，N3-氰乙基胸腺嘧啶（CNET）杂质；碱基脱氨杂质等。	起始原料/试剂、工艺、降解
分支杂质	如碱基中环外氨基保护基丢失，与 5'羟基形成两个活性位点共同参与链的延长产生分支杂质等。	起始原料、工艺。
聚合物杂质	环丁烷嘧啶二聚体（CPD）；链间交联杂质（ICL）等。	起始原料、工艺、降解
单链杂质	如双链 siRNA 中未参与退火的单链残留等。	工艺、降解

316 寡核苷酸相关杂质的控制:

317 通常,寡核苷酸相关杂质可接受的报告限度为 0.2% (部
318 分结构复杂、分子量大的杂质可基于分析方法的定量限适当
319 调整)、鉴定限度为 1.0%、界定限度为 1.5%。

320 对于超过界定限度的杂质,应有界定数据支持。相关杂
321 质可根据杂质的结构分为四个不同的类别,不同类别杂质的
322 相关界定数据要求如下:

323 I类杂质为与主要代谢物结构相同的杂质,如主成分核酸
324 3'或 5'端缺少一个或多个核苷酸的杂质、双链寡核苷酸的单
325 链杂质、缀合物寡核苷酸中的非缀合物寡核苷酸杂质等。此
326 类杂质即使含量超过界定限也无需额外的安全性评估。

327 II类杂质为仅含天然存在的核酸结构的杂质,如:硫代磷
328 酸二酯被天然磷酸二酯代替的杂质。此类杂质即使含量超过
329 界定限也无需额外的安全性评估。

330 III类杂质为由活性成分寡核苷酸的序列变体组成,如:
331 链内缺少核苷酸或添加核苷酸的 n-1 或 n+1 杂质(不在序列
332 的 3'或 5'端)、由脱氨引起的尿嘧啶(或胸腺嘧啶)取代了胞
333 嘧啶(或 5-甲基胞嘧啶)的降解产物。通常可将它们识别并
334 量化为一组含有 n-1 或 n+1 个序列的杂质。对于超过 1.5%的
335 一组杂质,则每个序列的杂质需进行归属研究,超过 1.5%的
336 单个序列还需要进行安全性评估。对于其他可能引起安全性
337 担忧的杂质(如与其他靶点杂交且产生药理作用的杂质),即

338 使其含量未超过 1.5%，也建议进行合理的安全性评估。

339 IV类杂质为含有活性成分以外的核苷酸或非天然核酸
340 结构元素的杂质，如：无碱基杂质。若此类杂质含量超过 1.5%，
341 建议优化生产工艺来降低杂质水平，如不能降低，需进一步
342 进行安全性评估。

343 关于杂质界定的总体策略可参考附件的决策树。

344 对于上述不同类型的杂质，应根据安全性评估数据（如
345 涉及），同时考虑相关文献或指导原则、历史批次数据和稳定
346 性数据，合理制定杂质的限度。

347 对于与其他功能分子（如 N-乙酰半乳糖胺（GalNAc）
348 等）偶联的寡核苷酸药物，需关注偶联杂质的风险，例如
349 GalNAc 配体寡核苷酸，应关注配体降解引入的杂质，如脱乙
350 酰基、糖环水解等杂质。

351 3.2 非寡核苷酸杂质

352 寡核苷酸常规工艺（如固相合成中的多次洗涤、制备纯
353 化、超滤、冻干等）通常对小分子杂质具有较高的清除能力，
354 针对合成使用的有机溶剂、试剂、小分子副产物、残留溶剂、
355 元素杂质、配体、保护基等，可根据其清除能力、实际检测
356 数据等，评估其残留风险，并按相关指导原则进行控制。

357 对于致突变杂质（包括亚硝酸胺类杂质），建议关注如起始
358 原料引入的亚硝酸胺杂质，寡核苷酸药物在合成过程中使用的
359 脱 DMT 试剂、氨解试剂、亚磷酰胺的临时保护基团等反应

360 生成的副产物，或使用偶联工艺时偶联物自身或偶联过程中
361 可能存在的致突变杂质，酌情控制。

362 (五) 对照品

363 一般情况下，寡核苷酸产品需建立原料药及关键中间产
364 品对照品。双链寡核苷酸产品的对照品一般包括正义链、反
365 义链和双链寡核苷酸本身。对于用于单链寡核苷酸鉴别（例
366 如融化温度）的互补链寡核苷酸，也应建立对照品。

367 对于质量标准中规定的特定杂质建议通过定向合成方法
368 制备代表性杂质对照品，也可通过工艺优化或分离纯化获得，
369 其纯度应满足分析要求。

370 对照品应明确来源（例如，根据商业工艺合成的批次）、
371 制备和标定信息，并提供对照品批次的表征方法和结果。寡
372 核苷酸对照品应明确贮藏条件及有效期。

373 (六) 稳定性

374 稳定性研究应遵循 ICH 稳定性相关指导原则。结合工艺
375 开发过程中的药物不稳定因素，在稳定性考察中重点关注。
376 稳定性研究项目应包括在贮藏过程中容易发生变化并可能
377 会影响质量、安全性和/或有效性的关键质量属性。

378 稳定性考察中特别关注降解杂质，例如氧化、脱氨、脱
379 嘌呤/脱嘧啶（碱基杂质）、无碱基杂质等。

380 对于吸湿性粉末，稳定性研究中应考察水分。此外还应
381 关注和考察寡核苷酸是否发生聚集现象。

382

四、制剂

383

384

385

386

387

388

寡核苷酸药物大多具有易酶解、脂溶性差等特点，口服生物利用度较低，通常以注射途径给药（如皮下注射、静脉注射、鞘内注射等），因此本节内容主要根据注射剂进行阐述。随着技术的发展，寡核苷酸药物亦可能被开发为其他制剂类型。对于其他给药途径（剂型）的产品，应结合制剂特点，参照各剂型相关指导原则开展研究和控制。

389

（一）产品开发

390

1. 剂型及递送系统

391

392

393

寡核苷酸药物，通常开发为普通注射剂，包括注射液、注射用无菌粉末。部分品种基于临床需要，可开发为具有载体递送系统的特殊注射剂，如脂质纳米粒等。

394

2. 处方工艺开发

395

2.1 处方开发

396

397

398

399

在常规制剂开发基础上，结合原辅料相容性研究结果，关注辅料是否会引起寡核苷酸药物杂质谱的变化、非预期高级结构和聚集体的形成，及其他对产品质量和安全性的潜在影响。

400

2.2 生产工艺开发

401

402

403

生产工艺开发时应充分了解影响寡核苷酸药物稳定性的各种因素，如 pH、光照、温度等，在拟定生产工艺中应尽量避免敏感因素的影响并制定合理的控制策略。应参照相关

404 指导原则合理选择灭菌/无菌生产工艺，并提供支持依据。

405 2.3 相容性研究

406 应按照相关指导原则的要求开展包材相容性、生产组件
407 相容性、包装系统密封性、配伍稳定性等相关研究。

408 2.4 具有载体递送系统的特殊注射剂

409 对于脂质纳米粒等载体递送系统注射剂，处方开发应重
410 点关注功能性辅料（包括脂质、非脂质辅料）的来源、理化
411 特性、生产工艺、质量控制、稳定性等，以及载体递送系统
412 对活性成份保护作用、递送效率等对制剂关键质量属性（如
413 粒径分布、形态和结构、表面电位、包封率、杂质残留和稳
414 定性等）的影响等，充分论述各辅料的选择依据及处方合理
415 性。工艺开发时应重点关注药物包封步骤、纯化步骤和除菌
416 过滤对制剂关键质量属性的影响等。

417 （二）生产工艺

418 1. 生产工艺

419 寡核苷酸药物制剂的生产工艺通常包括配液、过滤除菌、
420 灌封、包装等步骤。应结合工艺开发研究及生产设备放大的
421 实际控制能力，合理设定工艺参数。对于脂质纳米粒等特殊
422 注射剂，需进一步严格工艺控制，载体递送系统的形成步骤
423 应作为关键步骤进行控制，并加强中间产品的质量控制在。

424 2. 工艺验证

425 商业化生产工艺确定后，建议采用商业化生产工艺及规

426 模在商业化生产场地进行工艺验证。考虑寡核苷酸产品的工
427 艺复杂性和产品变异性，应结合产品开发及风险评估，合理
428 选择工艺验证参数、制定工艺验证方案，验证批次不少于三
429 批。

430 3. 批量

431 应注意识别从临床规模放大至商业化规模生产过程中的
432 的风险并制定控制策略。由于脂质纳米粒等特殊制剂的复杂
433 性，其生产规模导致的生产设备及参数的变化可能产生大量
434 不可预期的风险，建议拟定商业生产批量与关键临床试验样
435 品的生产批量保持一致。

436 (三) 质量研究与控制

437 寡核苷酸注射剂，应参照注射剂相关指导原则开展质量
438 研究。对于脂质纳米粒等纳米载体递送系统，建议同时参考
439 《纳米药物质量控制研究技术指导原则(试行)》、《脂质体药
440 物质量控制研究技术指导原则》(如适用)等国内外相关指导
441 原则开展研究。

442 1. 质量标准

443 可参照 ICH Q6A 的基本原则制定寡核苷酸类制剂产品
444 的质量标准。

445 质量研究和控制的典型项目一般应包括注射剂常规控
446 制项目，如性状、鉴别、澄清度与颜色、pH 值、降解杂质、
447 可见异物、渗透压摩尔浓度、不溶性微粒、细菌内毒素、无

448 菌、含量测定等。若为注射用无菌粉末，还应包括水分、复
449 溶时间等。在注射剂常规项目的研究基础上，应结合原料药、
450 偶联情况、辅料以及剂型（如递送系统）和包材特性等合理
451 设定有针对性的质量研究和控制项目。

452 对于脂质纳米粒等特殊制剂，应关注功能性成分（脂质、
453 非脂质）的鉴别和含量测定、脂质相关降解产物、纳米相关
454 特性指标（如结构形态、粒径及粒径分布、表面性质、包封
455 率、释放度等）。

456 对于涉及高级结构并影响其生物活性的寡核苷酸药物
457 （如适配体），应考虑进行高级结构和生物活性等检测。

458 如果在成品生产和/或贮藏过程中发生聚集/聚合倾向，
459 一般应将相关指标（如聚集体、聚合物、高级结构等）纳入
460 成品质量标准进行控制。

461 2. 分析方法

462 建议结合制剂处方工艺，参考原料药制定制剂的质控分
463 析方法。如经确认方法适用，部分检测项目可直接采用与原
464 料药相同或相近的分析方法，如鉴别、纯度、杂质、含量、
465 立体异构体、生物活性等。

466 制剂产品杂质的分析方法，在原料药的检测方法基础上，
467 关注制剂降解杂质、原辅料相互作用杂质的分离检出能力，
468 必要时进行优化。对于制剂产品中的潜在聚集体杂质，应采
469 用合理的分析方法进行检测，如分子排阻色谱法。

470 对于脂质纳米粒等特殊制剂，应充分考虑分析方法的适
471 用性和不同方法之间的互补性，在此基础上优选专属性高、
472 耐用性好的分析方法作为最终质量标准中的分析方法。

473 对于非药典方法应提供详细的方法描述，确保可操作性
474 及重现性。对制剂关键考察项目的分析方法进行完整的方法
475 学验证。鼓励采用杂质对照品进行降解杂质分析方法验证。

476 3. 杂质分析

477 应重点研究制剂工艺相关杂质(包括原料药与辅料和/或
478 内包材的反应产物等)、制剂的降解杂质(包括可能出现的聚
479 集体杂质)。应进行元素杂质、亚硝胺类杂质的评估和控制。

480 建议根据制剂强制降解、影响因素等试验考察制剂高温、
481 光照、不同 pH 条件下降解情况，全面了解制剂降解途径及
482 降解产物。常见降解杂质包括：氧化杂质(如硫代磷酸酯(PS)
483 二酯寡核苷酸氧化产生的磷酸二酯(PO)杂质)、热降解杂
484 质(如磷酸二酯键水解产生的断裂核酸序列、碱基脱氨反应
485 使胞嘧啶(C)转化为尿嘧啶(U)、腺嘌呤(A)转化为次黄
486 嘌呤(I)等杂质)、酸碱降解杂质(如酸性条件下脱嘌呤或
487 脱嘧啶反应产生的无碱基杂质；碱性条件下核苷酸链水解产
488 生的断裂核酸序列)、水解杂质(断裂核酸杂质、糖基修饰杂
489 质、糖基脱落杂质)、光降解杂质(碱基氧化、环化、嘧啶碱
490 基发生二聚化反应形成的二聚体杂质等)。

491 对于制剂的寡核苷酸相关杂质，通常可接受的报告限度

492 为 0.2% (部分结构复杂、分子量大的杂质可基于分析方法的
493 定量限适当调整)、鉴定限度为 1.0%、界定限度为 1.5%。

494 (四) 稳定性

495 稳定性研究应遵循 ICH 稳定性相关指导原则。稳定性研
496 究项目应考察关键质量属性, 特别关注降解杂质, 例如氧化、
497 脱氨、脱嘌呤/脱嘧啶(碱基杂质)、无碱基杂质等。此外还应
498 关注和考察寡核苷酸是否发生聚集现象。

499 五、药学可比性研究

500 寡核苷酸药物的开发遵循创新药研发的一般规律, 可能
501 面临各类药学变更的情形, 应结合所处的产品开发阶段、变
502 更的性质、先验知识和经验等进行风险评估。根据风险评估
503 的结果决定需要进行的可比性研究内容。

504 药学可比性研究的目的在于证明药学变更前后产品的
505 关键质量属性一致。通常, 可比性研究可能包括如下方面考
506 虑。

507 (一) 结构确证

508 通常发生可能影响产品结构的生产工艺变更, 如起始原
509 料供应商变更、固相合成工艺变更、批量放大等, 需对变更
510 前后生产的产品进行结构确证。除常规结构确证项目、核酸
511 序列测定外, 对于双链寡核苷酸, 应进行双链杂交状态确定,
512 采用的方法包括傅里叶变换红外光谱(FTIR)、解链温度等。
513 对于存在高级结构的寡核苷酸, 应进行高级结构对比研究,

514 采用的方法包括圆二色谱（CD）、差示扫描量热法（DSC）、
515 分子排阻色谱（SEC）、沉降速率-分析超速离心（SV-AUC）
516 等，必要时还需要测定生物活性。

517 （二）质量对比研究

518 通常应对质量标准控制项目和产品其他关键质量属性
519 进行检测，如原料药含量、杂质、反离子等；制剂含量、杂
520 质、异构体、释放度（如有）等。

521 质量对比研究需重点关注产品杂质谱，应充分评估变更
522 对杂质谱可能产生的影响，建议使用不同分离原理的分析方
523 法进行深入的杂质对比研究，检测方法需能够涵盖寡核苷酸
524 的完整杂质谱（必要时可采用补充方法进行额外的杂质检
525 测）。如变更后产品检测到新增寡核苷酸杂质，根据杂质水平，
526 对于超鉴定限度的杂质需进行杂质结构确证；对于超过界定
527 限度的杂质，可遵循上文所述的杂质分类原则评估是否需进
528 一步进行安全性评估。

529 应比较变更前后产品的立体异构体特征，在立体异构体
530 检测的基础上，建议关注可能影响产品立体化学的物料（亚
531 磷酰胺起始原料、载体固定的寡核苷酸、催化剂和溶剂）、生
532 产工艺（柱层析色谱条件）参数，以论证改进后的生产工艺
533 所制备的产品立体异构体分布相似。

534 （三）稳定性对比研究

535 一般需进行变更前后产品的稳定性研究。重点关注可能

536 受到变更影响的质量属性。

537 如果原料药的药学变更可能影响到制剂的生产工艺或
538 产品质量，通常需要对原料药及其制剂同时进行评估。当药
539 学评估结果表明变更会对产品的安全性或有效性产生风险
540 时，应进一步评估并考虑开展非临床和临床桥接研究。

541 六、参考文献

542 [1] CDE.《化学药物杂质研究技术指导原则》.2005.

543 [2] CDE.《创新药（化学药）临床试验期间药学变更技术
544 指导原则（试行）》.2021.

545 [3] CDE.《化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性
546 研究技术指导原则（试行）》.2015.

547 [4] CDE.《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指
548 南（试行）》.2020.

549 [5] CDE.《化学药品注射剂配伍稳定性药学研究技术指
550 导原则（试行）》.2024.

551 [6] CDE.《纳米药物质量控制研究技术指导原则（试
552 行）》.2021.

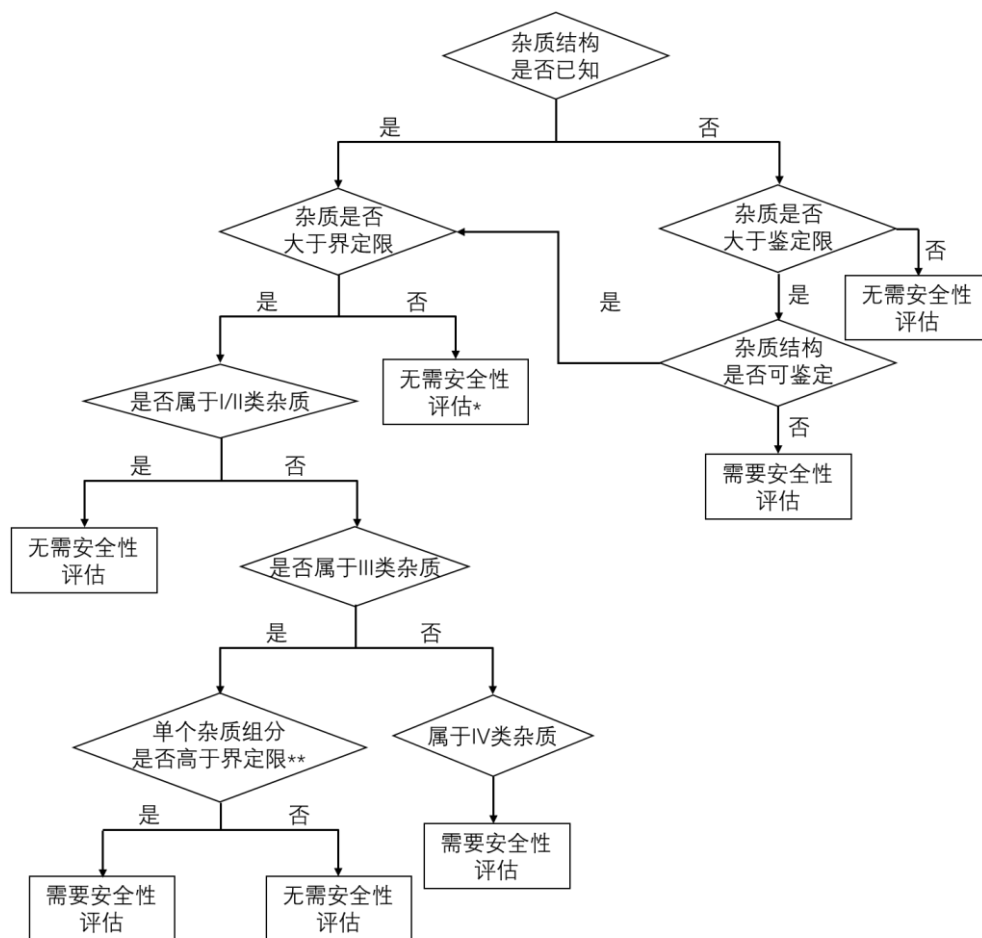
553 [7] CDE.《脂质体药物质量控制研究技术指导原则》.2023.

554 [8] ICH Q6A.Specifications: Test Procedures and
555 Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug
556 Products.1999.

557 [9] ICH Q8(R2).Pharmaceutical Development.2009.

- 558 [10] ICH Q9(R1).Quality Risk Management.2023.
- 559 [11] ICH Q10.Pharmaceutical Quality System.2008.
- 560 [12] ICH Q11.Development and Manufacture of Drug
561 Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological
562 Entities). 2012.
- 563 [13] EMA. Draft guideline on the development and
564 manufacture of oligonucleotides: Guideline on the Development
565 and Manufacture of Oligonucleotides.2024.
- 566 [14] Impurities in Oligonucleotide Drug Substances and
567 Drug Products. Nucleic Acid Therapeutics. 2017.
- 568

附件：杂质界定策略决策树



* 对于其他可能引起安全性担忧的III类杂质，建议进行合理的安全性评估

** 如按组定义，需对其中的每个杂质进行归属研究