

ICS 67.050

CCS C 25

T/GDPA

广东省药学会团体标准

T/GDPA XXXX—2024

维兰特罗及手性异构体的检测 液相色谱法

Vilanterol detection of chiral isomers--High performance liquid chromatography
method

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2024 - XX - XX 发布

2024 - XX - XX 实施

广东省药学会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由广东省药学会药物手性专业委员会提出。

本文件由广东省药学会团体标准委员会归口。

本文件起草单位：广东莱佛士制药技术有限公司，华南师范大学，广东朗斯姆生化技术有限公司。

本文件主要起草人：***、章伟光、胡小刚、黄露露、蹇峰、***



引 言

本文件中的被测物质维兰特罗是葛兰素史克公司研发的新型 β_2 -受体激动剂，具有起效快、作用时间持久等优点，对 β_2 -受体的亲合力较对 β_1 -受体和 β_3 -受体高1000倍^[1-2]，具有高度选择性，可作为多款上市药品如茚地那韦的原料药或有效成分进行使用，具有广阔的需求市场。维兰特罗存在两种手性异构体，分别是(*R*)-维兰特罗和(*S*)-维兰特罗，期中(*R*)-维兰特罗作为药剂原材料，发挥治疗效果，而(*S*)-维兰特罗为合成路线中副产物。维兰特罗原料药需要确定合适的手性异构体检测技术与检测条件来落实和确认质量的合格和数据的有效性，但目前维兰特罗没有公开的手性异构体检测技术标准。

目前我国尚未规定维兰特罗手性异构体的检测，本文件采用高效液相色谱法（HPLC），对(*R*)-维兰特罗、(*S*)-维兰特罗判定和含量测定提供检测方法。



维兰特罗及手性异构体的检测 液相色谱法

1 范围

本文件规定了用高效液相色谱法测定(*R*)-维兰特罗、(*S*)-维兰特罗含量的试验方法。
本文件适用于对纯度较高(纯度 $\geq 98\%$)的维兰特罗标准品或原料产品判定和含量测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 16631 高效液相色谱法通则
GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
JJG705-2014 液相色谱仪检定规程

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 方法提要

用高效液相色谱法,在选定的工作条件下,通过手性色谱柱使样品溶液中维兰特罗手性异构体分离,用紫外检测器测定,外标法定量,计算样品中(*R*)-维兰特罗、(*S*)-维兰特罗的质量分数。

5 试剂与材料

- 正己烷:色谱纯。无水乙醇:色谱纯。三氟乙酸(TFA):色谱纯。二乙胺:色谱纯。
- 参比物质1(对照品):(*S*)-维兰特罗,化学纯度:96.3%(HPLC),由深圳市恒丰万达医药科技有限公司提供。
- 参比物质2(对照品):(*R*)-维兰特罗,化学纯度:99.6%(HPLC),由广东莱福士制药技术有限公司提供。

6 仪器与设备

- 高效液相色谱仪:配紫外检测器(UV),其灵敏度及稳定性应符合GB/T 16631。
- 色谱柱:纤维素三-(4-氯-3-甲基苯基氨基甲酸酯)硅胶填充剂色谱柱(Phenom-enex, Lux Cellulose-4, 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m)。
- 分析天平:感量0.1 mg。
- 量瓶:100 mL、20 mL、10 mL、5mL。
- 微量移液器:100~1000 μ L 量程、20~200 μ L 量程。

7 测定步骤

7.1 样品溶液的制备

7.1.1 混合对照品标准储备溶液的制备

分别精密称定一定量的(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗对照品置于同一量瓶中,加入乙醇稀释至刻度,配成1 mg/mL的混合对照品标准储备溶液,冰箱4℃冷藏保存,可使用1周。

7.1.2 (S)-维兰特罗标准储备溶液和(R)-维兰特罗标准储备溶液的配制

分别精密称定(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗标准对照品,置于不同量瓶中,加入乙醇稀释至刻度,分别配成约1 mg/mL的(S)-维兰特罗标准储备溶液和(R)-维兰特罗标准储备溶液,冰箱4℃冷藏保存,可使用1周。

7.1.3 标准工作曲线溶液的配制

精密量取混合对照品标准储备溶液(见7.1.1)一定体积,置于5 mL量瓶中,加入乙醇稀释至刻度,摇匀,配制成系列标准混合工作溶液:0.005 mg/mL、0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.03 mg/mL、0.05 mg/mL、0.06 mg/mL、0.08 mg/mL和0.1 mg/mL,分别编号1、2、3、4、5、6、7和8。

7.1.4 供试品溶液的制备

取供试品10 mg,精密称定,置于20 mL量瓶中,加入乙醇稀释至刻度,现配现用。

7.2 高效液相色谱测定

7.2.1 色谱分析条件

按高效液相色谱操作规程开机预热,调节温度及流量,达到分析条件并基线平稳后进样分析。推荐的色谱柱及典型色谱操作条件见表1,其他能达到等分分离程度的色谱柱和色谱操作条件均可使用。

表1 色谱柱和典型色谱操作条件

| 分离条件 | 参数 |
|------|---|
| 色谱柱 | 纤维素三-(4-氯-3-甲基苯基氨基甲酸酯)硅胶为填充剂(Phenomenex, Lux Cellulose-4 4.6 mm×250 mm, 5 μm 或效能相当的色谱柱) |
| 流动相 | 正己烷:乙醇:二乙胺:三氟乙酸=800:200:0.5:1 (v/v), 等度洗脱 |
| 柱温 | 30℃ |
| 流速 | 1 mL/min |
| 检测波长 | 230 nm |
| 进样量 | 25 μL |
| 运行时间 | 20 min |

将上述系列标准混合工作溶液(见7.1.3)按色谱条件(见7.2.1)进行测定,以(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗峰面积为y轴,对应的(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗浓度为x轴,绘制标准工作曲线。

7.2.2 定性确认

液相色谱仪对样品进行定性测定,取混合对照品标准储备溶液(见7.1.1)1.25 mL于5 mL量瓶中,用乙醇稀释至刻度,按色谱条件(见7.2.1)进行测定,分离度不小于1.5,液相色谱图参见附录A图A.1。若在供试品的色谱图中,保留时间与(S)-维兰特罗或(R)-维兰特罗对照品相近的位置出现色谱峰,且两者的紫外吸收谱图一致,则可初步认为供试品中存在(S)-维兰特罗或(R)-维兰特罗。

7.2.3 试样测定

将供试品溶液(见7.1.4)按色谱条件(见7.2.1)进行测定,记录色谱峰的保留时间和峰面积,由色谱峰面积从标准工作曲线上计算出相应的(S)-维兰特罗或(R)-维兰特罗的浓度。供试品溶液中(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗响应值应在仪器测定的线性范围内,否则应重新调整浓度后测定。

7.2.4 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

8 结果计算

试样中(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗的质量分数按式(1)计算:

$$X_i = \frac{C_i \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ----- 试样中被测组分的含量，单位用克每克（g/g）表示；

C_i ----- 从标准曲线上得到的(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗的浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

V ----- 试样稀释后的总体积，单位为毫升（mL）；

m ----- 试样质量，单位为毫克（mg）。

计算结果保留 3 位有效数字，取平行测定结果的算术平均值作为测定结果。

9 回收率

(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗添加浓度在0.049 g/g~0.950 g/g浓度范围里，回收率在95%~110%之间，相对偏差小于5%。

10 重复性

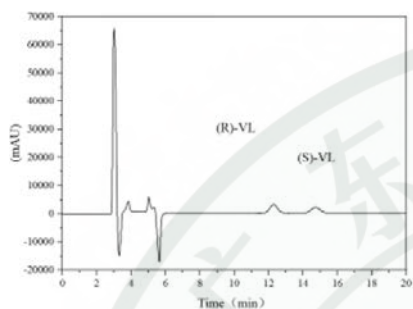
在重复条件下，取两次独立测定的算术平均值作为结果，其绝对差值不得超过算术平均值的10%。



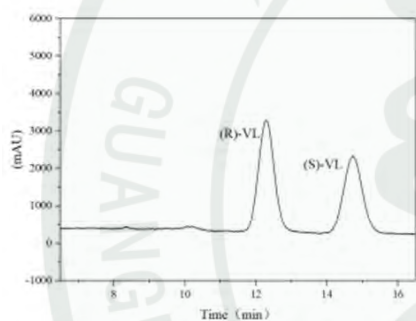
附录 A
(资料性)
色谱图及化学结构

A.1 图 A.1 给出(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗对照品的典型高效液相色谱图

1



2



注: 1.(R)-维兰特罗, $t_{R1} = 12.29$ min; 2.(S)-维兰特罗, $t_{R2} = 14.72$ min。

图A.1 (S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗异构体对照品的液相色谱图

A.2 表 A.1 给出了(S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗的分子式、相对分子量和化学结构式

表A.1 (S)-维兰特罗、(R)-维兰特罗的分子式、相对分子量和化学结构式

| 中文名 (英文名) | CAS号 | 分子式 | 相对分子 质量 | 化学分子结构式 |
|----------------------------|-------------|------------------------|------------|---------|
| (R)-维兰特罗 (R)-vilanterol | 503068-34-6 | $C_{24}H_{33}Cl_2NO_5$ | 486.3 | |
| (S)-维兰特罗 (S)-vilanterol | | $C_{24}H_{33}Cl_2NO_5$ | 486.3 | |

参 考 文 献

[1]McKeage K. Fluticasone Furoate/Vilanterol: A Review of Its Use in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Drugs*, 2014, 74(13): 1509-1522.

[2]Syed Y. Fluticasone Furoate/Vilanterol: A Review of Its Use in Patients with Asthma. *Drugs*, 2015, 75(4): 407-418.

