
手性药物质量控制研究技术指导原则

手性药物质量控制研究技术指导原则

一、概述

三维结构的物体所具有的与其镜像的平面形状完全一致,但在三维空间中不能完全重叠的性质,正如人的左右手之间的关系,称之为手性。具有手性的化合物即称为手性化合物。手性是自然界的一种基本属性,组成生物体的很多基本结构单元都具有手性,如组成蛋白质的手性氨基酸除少数例外,大都是 L-氨基酸;组成多糖和核酸的天然单糖也大都是 D 构型。作为调节人类的相关生命活动而起到治疗作用的药物,如果在参与体内生理过程时涉及到手性分子或手性环境,则不同的立体异构体所产生的生物活性就可能不同。手性化合物除了通常所说的含手性中心的化合物外,还包括含有手性轴、手性平面、手性螺旋等因素的化合物。在本指导原则中所指的手性药物主要是指含手性中心的药物,其它类型的手性药物也可参考本指导原则的基本要求。

手性药物是指分子结构中含有手性中心(也叫不对称中心)的药物,它包括单一的立体异构体、两个以上(含两个)立体异构体的不等量的混合物以及外消旋体。不同构型的立体异构体的生物活性也可能不同,大致可分为以下几种情况^[1]:

1) 药物的生物活性完全或主要由其中的一个对映体产生。如 S-萘普生在体外试验的镇痛作用比其 R 异构体强 35 倍。

2) 两个对映体具有完全相反的生物活性。如新型苯哌啶类镇痛药-哌西那朵的右旋异构体为阿片受体的激动剂,而其左旋体则为阿片受体的拮抗剂。

3) 一个对映体有严重的毒副作用。如驱虫药四咪唑的呕吐副

作用是由其右旋体产生的。

4) 两个对映体的生物活性不同，但合并用药有利。如降压药-蔡必洛尔的右旋体为 β -受体阻滞剂，而左旋体能降低外周血管的阻力，并对心脏有保护作用；抗高血压药物茚达立酮^[2]的 *R* 异构体具有利尿作用，但有增加血中尿酸的副作用，而 *S* 异构体却有促进尿酸排泄的作用，可有效降低 *R* 异构体的副作用，两者合用有利。进一步的研究表明，*S* 与 *R* 异构体的比例为 1:4 或 1:8 时治疗效果最好。

5) 两个对映体具有完全相同的生物活性^[3]。如普罗帕酮的两个对映体都具有相同的抗心率失常作用。

正是由于手性药物的不同立体异构体在药效、药代及毒理等方面都可能存在差异，美国 FDA 在其关于开发立体异构体新药的政策^[4]中要求在对手性药物进行药理毒理研究时，应分别获得该药物的各立体异构体，进行必要的比较研究，以确定拟进一步开发的药物。所以手性药物药学研究的主要任务就是为药物的筛选与进一步研究提供足够数量与纯度的立体异构体。本指导原则是在一般化学药物药学指导原则的基础上，并充分考虑手性药物的特殊性而起草的，其目的是为手性药物的药学研究提供一般性的指导。本指导原则中所说的手性药物主要针对单一的立体异构体、两个以上（含两个）立体异构体组成的不等量混合物。

由于手性药物的研发是一项探索性很强的工作，情况也比较复杂，所以在使用本指导原则时，还应具体问题具体分析：在遵循药品研发的自身规律以及手性药物一般要求的基础上，根据所研制药物的特点，进行针对性的研究。如采用本指导原则以外的研究手段与方法，则该方法或手段的科学性和可行性必须经过必要的验证。

二、手性药物药学研究的基本思路

手性药物药学研究的基本思路为：除了要遵循已有的各项药学研究指导原则外，还需要针对手性药物的特点进行研究。各项研究的具体要求如下：在原料药制备工艺研究时，应根据手性中心的引入方式，采取有效的过程控制手段，严格控制手性原料与每步反应产物的光学纯度；在结构确证时，需根据化合物本身的结构特点，并结合其制备工艺、结构确证用对照品及文献数据等已有的研究基础，选择合适的方式来证明该药物的绝对构型；在选择制剂的剂型、处方与工艺时，应注意保持手性药物构型的稳定，不产生构型变化；质量研究时，应结合工艺与各手性中心的稳定性确定需研究控制的立体异构体杂质，并注意验证各种手性分析方法的立体专属性；在制订质量标准时，应综合各方面的研究数据，合理有效地监控产品的光学特性与光学纯度；在稳定性研究时，应设立灵敏、立体专属性的光学纯度检测指标，以监测构型的稳定性。

各项药学研究之间也是紧密联系、相互印证的，需要随时参考其它研究的结果，以使整个药学研究工作更为全面与准确。下面分别论述各药学研究间的关系：

（一）结构确证研究与原料药制备工艺间的关系

对于通过化学合成制备的手性药物来说，在确证其构型时，应充分利用从制备工艺中所获取的信息，为结构确证提供必要线索，从而使结构确证研究更容易进行。当原料药中的某一个手性中心是从起始原料或试剂中引入的，并且在后续的反应过程中，该手性中心并未受到影响，或对手性中心构型的影响是明确而定量发生的，此时，如果该起始原料或试剂的立体结构是已知的，根据已知的原材料立体结构及相关的制备工艺，通过经典的化学相关法即可确证原料药中该手性

中心的构型。

在鉴定立体异构体杂质的结构时，也可以结合制备工艺中各步反应的机理与可能的副反应来综合分析，确定杂质的可能结构范围后，再选择针对性强的结构确证方法加以验证，以减少杂质结构确证研究的工作量，降低其难度。

分析确定了在工艺中产生的立体异构体或其它杂质的结构后，还可以帮助我们进一步了解反应的机理，优化工艺条件，尽量减少反应副产物的生成。所以杂质的结构确证反过来又可以指导工艺的优化。

(二) 质量研究及标准制订与其它研究间的关系

1. 与制备工艺间的关系

质量研究时应结合制备工艺，分析工艺中可能产生的手性杂质，确定须在质量研究中分析检测的目标杂质，然后根据这些杂质是属于非对映异构体还是对映异构体，选取合适的分析方法，并且有针对性地对这些杂质的检测方法进行验证。

质量标准的控制必须与原材料的源头控制及生产的过程控制相结合才能切实控制上市产品的质量，尤其对于含多个手性中心的药物更是如此。因为立体异构体的数量与手性中心的数目成指数关系，在手性中心较多（一般大于或等于 3）时，仅通过终产品的质量标准的控制所有的立体异构体杂质，在技术上有一定的难度，有时甚至做不到。这时一定要根据工艺中手性中心的引入方式，合并采用源头控制及生产的过程控制，来全面控制产品的光学纯度。这样既能有效地控制产品的光学纯度，又能合理地降低终产品质控的难度。

其次，通过了解制备工艺，可以帮助我们全面掌握产品的质量情况，分析可能产生的工艺杂质，从而在标准中进行合理的控制。对于手性药物来说，我们可以通过了解手性中心的引入方式，分析各

种手性杂质产生的可能性, 在采用科学合理的分析方法获取足够数据的基础上, 才能明确在质量标准中需控制的各种立体异构体杂质。

2. 与稳定性研究间的关系

首先, 质量研究应对稳定性研究中采用的手性分析方法进行全面的验证工作, 以保证分析方法的立体专属性。其次, 根据稳定性研究中手性杂质的变化情况, 判断手性药物的构型在各种环境因素的影响下, 以及放置过程中是否稳定, 是否有构型变化现象的产生, 从而确定是否需在质量标准中控制这些手性杂质。

三、原料药的制备

单一的立体异构体的制备方式主要有两种: 一是在动植物体内天然生成或生物转化产生的, 再通过分离提取得到; 二是合成或半合成的方式, 其中也包括某一步或几步反应采用生物催化方式。由于第一种方式的机制比较复杂, 且除分离提取外, 对其工艺的控制与通常情况下所采用的合成的方式不同, 故在本节内容中主要针对第二种方式进行阐述, 第一种方式也可参考本节的主要原则。

手性药物作为一类特殊的化学药物, 对其制备工艺的研究首先需要遵循化学药物制备工艺研究的指导原则, 然后才能考虑其特殊性。在进行制备工艺研究时, 手性药物的一个特殊点在于: 在研究与制备过程中需要随时关注手性中心的变化, 并控制其光学纯度。基于手性药物的这一特点, 在研究其制备工艺时, 应遵循的一个重要原则是: 对所有的手性原料与试剂均应控制其光学纯度, 引入手性中心后的各反应中间体也应结合反应机理, 对可能产生的立体异构体杂质进行有效的分离、控制。这样就能与终产品的质量控制在结合, 达到全面控制产品光学纯度的目的。

由于手性中心的引入方式不同,在工艺中控制光学纯度的方式也各有不同,所以下面将根据手性中心的引入方式分别进行阐述:

(一) 直接从起始原料或试剂中引入

在此情况下,终产品中的手性中心是从光学纯的起始原料或试剂中引入的,在后续的制备过程中,不再涉及手性中心的构型改变,或涉及到的构型改变是可控的。因此,终产品的光学纯度主要取决于以下两个方面:起始原料或试剂的光学纯度;后续反应过程是否会影响已有手性中心,从而产生构型变化的可能性及程度。所以在进行工艺研究时,首先要采用立体专属性的分析方法严格控制起始原料或试剂的光学纯度,制定合理可行的手性杂质的限度。其次要根据后续反应的机理,充分分析后续反应是否会影响已有手性中心的构型,如可能会产生影响时,应研究与优化工艺条件,尽量避免或减少构型变化的产生。

由于在后续反应中存在构型变化的可能性,所以,在制备工艺中仅控制起始原料或试剂的光学纯度是不充分的,尤其是当终产品中存在多个手性中心,且难以对终产品中的所有立体异构体杂质进行有效控制时,就需要结合工艺中的过程控制来综合控制终产品的光学纯度。这就要求在进行工艺研究时,对引入手性中心后的每步反应的中间体中的立体异构体杂质进行检测,分析与监测构型变化的可能性。如没有发生构型变化,则只需根据工艺优化与验证的结果,在制备工艺中严格控制工艺操作参数即可;如可能会发生部分构型变化,则除了需严格控制工艺操作参数外,还需采用可靠的指标对中间体的光学纯度进行控制,即对该步反应中间体中的立体异构体杂质进行严格的控制。

总之,在此种情况下,除了需对手性中心引入的源头——起始原料或试剂进行光学纯度控制外,还需根据终产品质控的难度分别采用

上述不同的过程控制方式，以切实控制终产品的光学纯度。

（二）不对称合成

此种情况是指采用立体选择性或专属性的反应（包括酶催化反应）在分子中引入所需构型的手性中心，所以终产品的光学纯度直接取决于该步反应的立体选择性。为保证所采用方法的立体选择性，首先应尽可能查阅相关的文献资料，充分了解所用不对称合成反应的反应机理、反应条件、立体选择性等，以选取合适的反应；其次，在工艺研究中应对该步不对称反应的工艺操作参数进行筛选优化，并对产物的立体异构体进行严格的监测，确定该步反应的工艺条件与反应产物的光学纯度控制指标。引入手性中心后，进行后续反应时仍可能产生构型变化，故同样需要根据终产品质控的难度分别采用不同的过程控制方式，来综合控制终产品的光学纯度。此外，不对称合成中有可能使用一些毒性较大的催化剂，在后处理过程中应注意控制其残留。在质量研究中对这些催化剂的检测方法进行研究验证，并在质量标准中对其残留量进行控制。

两个以上（含两个）立体异构体组成的不等量混合物的合成主要是通过不完全的立体选择性反应得到的，此时在进行制备工艺研究时，其主要任务是确定合适的工艺参数，保证能稳定地获得组成固定并符合要求的混合物。

（三）消旋体的拆分

此种方式是指采用手性拆分试剂与外消旋的中间体或终产品反应生成非对映异构体，分离纯化得到所需的非对映异构体，再去掉手性拆分试剂，从而得到所需构型的手性化合物。在此工艺中影响终产品的光学纯度的因素有：手性拆分试剂的光学纯度、分离纯化是否完全、拆分及后续反应的构型变化。针对以上影响因素，要控制终产品

的光学纯度，可采取以下措施：首先应采用光学纯度尽可能高的拆分试剂；其次，应尽量纯化与拆分试剂反应所得的非对映异构体，因为这是控制成品光学纯度的重要步骤。在这两个措施中，均应采用合适的方法严格控制试剂与产品的光学纯度。

除此之外，随着手性拆分技术的进步，也可以采用制备型的手性色谱技术来直接分离对映异构体，从而得到所需的目标化合物。

总之，在手性药物制备工艺研究中，如果能充分考虑从工艺中对产品的光学纯度进行有效的全程控制，就能从源头上控制产品的质量。尤其是当终产品的质量标准难以全面有效地控制其光学纯度时，就更应该重视制备工艺研究中的过程控制。

四、结构确证

由于手性药物具有立体结构，并且在非手性条件下，对映体一般具有相同的熔点、溶解度、色谱保留行为、红外光谱 (Infrared Spectroscopy, IR)、核磁共振谱 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)，因此手性药物结构确证具有一定的特殊性，在进行结构确证时，除应符合结构确证的一般原则外，还应特别注意对其构型进行研究与确证。

(一) 手性药物结构确证的基本原则

手性药物结构确证的总体原则：应注意确证手性药物分子的绝对构型，对各手性中心的绝对构型是 *R* 还是 *S* (或其它的绝对构型表示方式) 均应确证清楚。对于单一的立体异构体，只需确证该分子中各手性中心的绝对构型；而对于立体异构体的混合物，则需要对各立体异构体的绝对构型及立体异构体间的比例进行确证。

构型的确证方法大体分为两类：直接法与间接法。直接法是指只需通过某一单一的方法即可确证手性药物的构型，例如，单晶 X 射线

衍射法 (Single-crystal X-ray Diffraction, SXRD); 间接法是指仅靠对待测物进行分析, 尚难以确证其构型, 而需综合其它数据, 如与其同系物的相关分析数据相结合才能确定待测物的构型。例如, 比旋度、手性色谱、核磁共振以及旋光光谱 (Optical Rotatory Dispersion, ORD)、圆二色谱 (Circular Dichroism, CD) 等分析方法都属于间接法。化学相关法也属于间接法。

除下面介绍的仪器分析方法外, 也可采用化学相关法确证手性药物的构型。在手性药物的制备过程中构型的变化是已知的情况下, 根据起始原料的构型、化学合成方法的立体选择性以及各中间体的立体结构也可间接获得最终产品 (药物) 的构型信息。该方法在仪器分析方法成熟以前使用较多。

在确证手性药物的结构时, 可采用常规方法确证药物的结构式; 然后再根据手性中心的数量、起始原料的构型、化学合成方法的立体选择性、文献数据、对照品等相关信息, 有针对性地选用比旋度测定、手性高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 或气相色谱法 (Gas Chromatography, GC)、化学相关法、SXRD、CD、ORD 以及奥氏核效应 (Nuclear Overhauser Effect, NOE) 差谱等方法对其绝对构型进行确证。因为比旋度测定相对比较简便, 且与分子的构型有一定的相关性, 所以一般情况下比旋度是必需的检测项目之一。

此外, 在绝对构型的确证中, 为保证结果的准确性, 除采用一种方法外, 需考虑采用另一种方法加以确认。

(二) 手性药物构型确证的主要方法

下面对手性药物构型确证的主要方法分别进行简要介绍。

1. X 射线衍射法 (X-ray Diffraction, XRD)

由于单晶 X 射线衍射法可以独立确定分子的绝对构型,所以在其他相关信息比较缺乏的情况下,如要确证手性药物的绝对构型,建议采用单晶 X 射线衍射法。

单晶 X 射线衍射法是通过单色 X 光源,常用 $\text{CuK}\alpha$ (1.54178Å) 与 $\text{MoK}\alpha$ (0.71073Å) 对具有一定几何尺寸大小 (0.01-1.00 mm) 的药物单晶体样品 (由多个晶胞组成) 进行 X 射线衍射实验,记录衍射数据并经相位计算即可获得药物分子立体结构的相关定量信息,如药物分子的相对或绝对构型以及药物晶体中存在的结晶水/溶剂含量与位置等一系列信息。

通常可采用四圆衍射仪 (低功率光源)、CCD 衍射仪 (低功率光源) 或 IP 面探测器 (高功率光源) 进行手性药物分子构型的测定。

单晶 X 射线衍射法测定分子绝对构型包括直接与间接两种方法:

直接法: 其测定原理是应用不同化学元素对 X 射线的反常散射 (色散) 效应。若待测药物样品仅含有 C、H、N、O 元素时,应使用 $\text{CuK}\alpha$ 辐射,衍射实验的 θ 角度不低于 57° ; 若待测样品中含有原子序数大于 10 的元素时,可以应用 $\text{MoK}\alpha$ 辐射,衍射实验的 θ 角不低于 25° 。

间接法: 利用分子结构中部分已知构型的基团确定分子构型。衍射实验采用 $\text{CuK}\alpha$ 或 $\text{MoK}\alpha$ 辐射均可。

应注意的是: 由于单晶 X 射线衍射结构分析的对象仅为待测样品中的一颗晶体,样品缺少普遍性,需对药物样品进行粉末 X 射线衍射 (Powder X-ray Diffraction, PXRD) 实验,用单晶结构数据计算该构型手性药物的理论粉末 X 射线衍射图谱,并与实验粉末 X 射线衍射图谱比较,当二者一致时即可证明衍射用单晶具有普遍性,从而确定手性药物的构型。

2. 圆二色谱

该项测试的原理主要是通过测定光学活性物质（待测物）在圆偏振光下的 Cotton 效应，根据 Cotton 效应的符号获得药物结构中发色团周围环境的立体化学信息，并与一个绝对构型已知的与待测药物结构相似化合物的 Cotton 效应相比较，即可能推导出待测物的绝对构型。

此外对于一些具有刚性结构的环体系的羰基药物，通过比较其 Cotton 效应的符号并结合经验规律“八区律”，亦可能预言某些羰基药物的绝对构型。

3. 旋光光谱

手性药物（溶液）在偏振光下存在旋光现象，其旋光值随入射偏振光波长的改变而改变。在同系物中，相同的化学反应使旋光值按相同的方向改变，而不改变其旋光的方向，通过比较相关化合物（药物）的旋光性，可得到手性药物的相对构型信息。如能得知药物旋光光谱的可测范围，则在一系列反应后，药物绝对构型可从用于制备该药物的底物构型推导得到。

应注意的是，在采用该方法测定药物绝对构型时，应与绝对构型已知且与待测药物结构相同或相似化合物，在相同的实验条件下测定旋光光谱，以保证比较结果的可靠性。

4. 核磁共振法

4.1 NOE 差谱

通过对具有刚性结构（或优势构象）药物分子中某一质子的选择性照射，致使与该质子在空间上距离较近的相关质子峰强度的增减和相互间偶合作用的消失，从而推测出相关质子在空间的相对位置，进而可获得药物的构型信息。

4.2 通过测定手性衍生物的 NMR 来确定其绝对构型。

待测手性分子与已知构型的一对对映异构体反应，生成两个非对映异构体后，分别测定各自分子中氢的化学位移，通过化学位移的比较，并结合计算等方法，从而推导出该手性分子的绝对构型。

例如，Mosher 法^[5]是将待测手性醇（或胺）与（R）或（S）- α -甲氧基- α -三氟甲基- α -苯基乙酸（MTPA）反应生成相应的酯或酰胺，然后测定该酯或酰胺的核磁共振氢谱。由于该方法已事先研究确定了两种不同构型的手性醇（或胺）生成相应的酯或酰胺后，手性碳上的氢的化学位移的变化规律，所以根据实测的化学位移的变化情况即可确定该手性醇（或胺）的绝对构型。由此可见，这类方法也属于间接法，可用于判断创新药物的绝对构型。

五、制剂处方及工艺

手性药物制剂研究的总体目标与普通化学药物是一致的，主要研究项目和思路总体上可以参照一般化学药进行。对于手性药物而言，处方及工艺研究的重点在于保证手性药物构型不变。手性药物构型的稳定情况也是手性药物制剂剂型选择时需要考虑的重要因素，如其稳定的 pH 范围，固态及液态下构型稳定情况，对光、热、空气等因素的稳定情况等。如果研究显示手性药物在溶液状态下构型不够稳定，可发生构型变化，则不宜选择注射剂、口服溶液等液体剂型。

手性药物处方筛选及工艺研究的重点是通过选择适宜的辅料和工艺条件，避免引起手性药物构型的转变。研究中应通过相应的验证实验证明选择的处方及制备工艺不会引起手性药物构型的变化。研究验证工作可以在处方筛选和工艺研究过程中进行，增加对手性药物立体异构体的考察，以证明某一处方或某一工艺条件下药物构型的稳定。

如考察不同 pH 值的系列处方，或某一处方灭菌前后药物立体异构体的变化情况，从而确定该处方或工艺条件下，手性药物构型的稳定情况。同时，研究验证工作也可以在确定初步的处方和制备工艺后，在制剂的稳定性评价中进行，即对制剂基本项目考察合格的样品，在选择两种以上处方样品进行影响因素考察时，增加考察药物构型的稳定情况，进而筛选出相对合理的处方。

六、质量研究与质量标准

（一）质量研究

1. 研究项目的确定

比旋度、立体专属性的鉴别项、立体异构体杂质检查以及立体专属性的含量测定等是反映药物立体化学特征的检测项目，在质量研究中要综合考虑药物研发的全过程确定研究项目。鉴别、光学纯度检查和含量测定等项目的取舍可统筹考虑，如果鉴别和检查项能够控制其光学特征和光学纯度时，含量测定可采用非立体专属性的测定方法。

2. 分析方法及其选择

分析方法直接关系到分析结果的准确性，因此，选择合适的光学纯度分析方法是手性药物质量研究的首要问题。

一般情况下，比旋度可按照药典附录的要求进行研究，需要注意的是选定的光源等测定条件应使测得的比旋度数值适中，能较灵敏地反映药物的光学特性；必要时除使用通常的钠灯光源外，还可选用汞灯等特定光源。影响比旋度数值的因素较多，包括使用的溶剂、测试液的浓度、测定时的温度、产品的化学纯度、光学纯度及仪器数据的正常波动等，因此，该数值的变化并不一定能灵敏、准确地反映出立

体异构体含量的变化。通常情况下，仅采用比旋度作为光学纯度的质控指标是不完善的，该方法需与其它立体专属性更强、灵敏度更高的分析方法相结合，才能较好地控制产品的光学纯度。天然来源的具有多个手性中心的药物如果难以进行立体异构体杂质的控制，且试验或文献数据证明其构型不易发生改变时，可仅用比旋度范围对其光学特性进行一定的控制。

理论上，非对映异构体之间可采用非立体专属性的方法进行分离检测，故以下仅针对对映异构体杂质的检测方法进行阐述。从方法的专属性及灵敏度考虑，一般多采用手性分离的方法检测对映异构体。HPLC、GC、毛细管电泳法（Capillary Electrophoresis, CE）、超临界色谱法（Supercritical Fluid Chromatography, SFC）及薄层色谱法（Thin Layer Chromatography, TLC）在这方面都有研究应用，但以前三者的应用较多。

色谱法拆分药物对映体可分为直接法和间接法两类。直接拆分法是指不经衍生化而直接分离对映体药物，可以分为手性固定相（Chiral Stationary Phase, CSP）法和手性流动相添加剂（Chiral Mobile Phase Additive, CMPA）法。前者是将手性源合成到普通固定相上，形成手性固定相。虽然手性固定相的制备有一定难度，且手性柱通用性差、供试品有时需作柱前衍生化处理等，但是该法的色谱系统稳定性好、方法重现性较好、使用方便，所以在手性药物的研究中应用较多。后者是在流动相中加入手性选择剂而在普通色谱柱上分离手性化合物，其优点是可采用普通的非手性柱、操作简便、分析过程较少发生消旋化；通过改变 CMPA 的种类、浓度及流动相组成等多种途径可优化分离条件，并控制出峰顺序。该方法的缺点是其色谱系统稳定性较差，

平衡时间较长, CMPA 消耗较多, 某些 CMPA 欠稳定, 且有时干扰检测; CMPA 有时需要自行合成, 不如手性固定相法方便。但因其制备难度小于 CSP, 在进行手性药物前期研究时, 因不易获得商品化的 CSP, 本法仍有较高的应用价值。间接拆分法主要是指手性试剂衍生化法 (Chiral Reagent Derivatization, CRD), 其原理主要是利用对映体混合物在预处理或前置柱中先与高光学纯度的手性衍生化试剂反应, 生成一对非对映体, 然后利用他们在理化性质上的差异, 在非手性柱 (也可用手性柱) 上加以分离。此法涉及供试品的化学转化和分离等预处理过程, 有时可引起某一对映体组分的消旋化、损失或富集, 且手性衍生化试剂的光学纯度及衍生化反应的速率或收率等都会影响分析结果的准确性, 研究中应加以关注。

3. 分析方法的验证

方法的验证应参照分析方法验证的技术指导原则, 对于光学纯度检查方法的验证, 立体专属性是考察的重点。立体专属性系指在其它手性杂质可能共存的情况下, 采用的方法能正确测定出被测物的特性。

方法专属性的验证, 可采用消旋体或与对映异构体混和进样的方式考察对映体间的分离度。同时需要考虑产品中其它有关物质对异构体检测的影响, 可采用各步反应的中间体 (尤其是后几步反应的中间体)、粗品来进行系统适用性研究, 考察各杂质与各立体异构体峰相互间的分离度是否符合要求。另外, 还可用酸、碱、光、热、氧化等适度破坏试验来验证该方法能否避免降解物对对映体检测的干扰。一般情况下, 其它有关物质的检查已有专门项目进行控制, 如有必要, 可通过选择检测波长等方法避免其它有关物质对异构体检测的干扰。

4. 定量方式

定量方式一般有峰面积归一化法、主成分自身对照法、异构体杂质对照品法。

因为两对映体的紫外吸收特性相同，如果主成分与其异构体含量或定量限在同一线性范围，采用峰面积归一化法定量更为简便、快捷；否则，可采用主成分自身对照法。当使用异构体杂质对照品法时，应注意对该对照品的制备工艺和构型进行详细研究，并制订其质量要求。

（二）质量标准

1. 手性药物光学纯度控制的原则

手性药物质量标准的构成与化学药物基本相同，特点是质控项目要体现其光学特征的质量控制。在手性药物质量标准的制订过程中，需要紧密结合制备工艺，确定针对性的质控项目，以有效控制产品的质量。制订质量标准时要根据对映异构体杂质的生物活性（毒性）、原料药的制备工艺（生产中的过程控制、生产的可行性及批与批之间的正常波动）、制剂工艺（制剂过程中是否发生构型转化）、稳定性考察（贮藏过程中是否发生构型转化）等的研究结果及批次检测结果来确定质量标准中需控制的立体异构体及其限度。需控制的立体异构体杂质应根据上述研究的结果加以确定，限度的确定则应首先考虑杂质的安全性。一般情况下，生物活性较强的对映体杂质，需根据研究结果严格控制其限度。在上市消旋体药物基础上研发的单一对映体药物，经临床验证其对映体杂质的毒副作用相对较小时，限度可适当放宽。非对映体杂质如能采用普通色谱方法进行检测，可按一般有关物质加以控制；毒副作用较大时，需单独控制其限度。

2. 质量标准的制订

2.1 原料药

【性状】项下的比旋度是手性药物的特征之一，可以说明药品的光学特征（旋光方向）和大致纯度。一般不宜单独用以控制产品的光学纯度，需要与检查项下的异构体检查项相互补充，以较好地控制产品质量。对于含多个手性中心的药物，如难以在质量标准中对所有可能产生的立体异构体杂质进行直接控制时，可用比旋度范围作为其光学特征和纯度的粗略控制方法。此时，由于该方法的局限性，需与严格的生产过程的质量控制相结合，并在充分考察产品质量的基础上，制订比旋度的范围。

【鉴别】项目的设立需要根据质量标准的整体情况综合加以考虑。已制订比旋度检查或立体异构体检查项时，可不考虑鉴别方法的立体专属性；否则，需要制订反映药物光学特征的鉴别方法。

【检查】项下立体异构体的检查是手性药物重要的质控项目之一。对于单一对映体药物或两对映体以一定比例组合给药的药物，须制订立体异构体检查项，以控制立体异构体杂质或两对映体的比例组成；含两个手性中心以下的单一对映体药物，一般需要对生产与贮藏过程中可能产生的各立体异构体杂质分别制订限度要求；含多个（2个以上）手性中心的单一对映体药物，由于建立分析方法难度较大，可在获得充分的安全性信息基础上，结合制备工艺的具体情况、过程控制措施与稳定性考察的结果，仅对生产与贮藏过程中产生的及毒性（生物活性）较大的立体异构体杂质作单独控制。

目前情况下，手性色谱法是手性药物立体异构体检查常用而有效的方法，但该方法不能直接反映药物的光学特征，需要与性状项下的比旋度测定相互补充，以有效控制药品质量。

天然来源的手性药物经试验或充足的文献证明其构型不发生改

变时，如氨基酸、糖类等，可以不制订立体异构体杂质检查项；而在性状项下，采用比旋度范围作为其光学特征的控制项目。

【含量测定】在鉴别和检查项能够反映手性药物光学特征和光学纯度时，可采用非立体专属性的测定方法。

2.2 制剂

制剂质量标准光学特征和光学纯度控制项目的制订，需要考虑制剂过程、贮运过程对手性药物构型的影响。如果上述过程对药物构型有影响，则制剂质量标准中需要制订立体异构体的检查项目；反之，可不对原料药中引入的立体异构体杂质进行控制，但需要考虑制订反映药物光学特征的鉴别方法，尤其在该药物的消旋体或另一对映体已上市的情况下，鉴别方法的立体专属性更为重要。

七、稳定性研究

根据研究目的不同，稳定性研究内容可分为影响因素试验、加速试验与长期留样试验等。手性药物稳定性研究基本原则和方法总体上与普通化学药物一致，但手性药物稳定性试验还需重点考察药物构型的稳定性，即通过设立适宜的光学纯度检查项目和采用灵敏、立体专属性的检查方法（如立体异构体检查等），考察原料药或制剂中手性药物的光学纯度或立体异构体比例变化情况。

一般来说，监控手性药物光学纯度的检测指标有比旋度及立体异构体限度检查。通常情况下，仅采用比旋度作为检测指标是不完善的，很难准确地反映构型的变化情况。所以建议采用立体异构体限度检查这一比较灵敏的指标进行稳定性监控，并注意其实测数值的变化情况。另外，由于立体异构体包括对映异构体与非对映异构体，在选择监控对象时要考虑产品的结构特点，有时仅监测对映异构体可能并不全面。

对于含一个以上手性中心的化合物，只有当所有的手性中心的构型均发生转变时，才会得到该手性药物的对映异构体，而这种可能性相对较小。实际上更可能发生的情况往往是分子中仅有一个或两个手性中心的构型发生了改变，从而产生非对映异构体杂质。所以在这种情况下，应根据前期的相关试验数据、理论分析或文献调研的结果，针对性地监测相应的立体异构体的含量，以更准确地反映该手性药物构型的稳定性。

影响因素试验一般需进行热、湿、光照考察，也可以根据药品的性质设计其他试验，如考察pH值、氧化等因素对药品构型的影响；对于需要溶解或者稀释后使用的药品，如注射用无菌粉末，应考察临床使用条件下的稳定性。上述研究中均需注意考察药物构型的变化情况。

通过对手性药物加速试验和长期留样试验中药物构型稳定性的考察，可以反映药品在加速和正常贮藏条件下构型的稳定情况。

在制剂的稳定性研究中也要注意监控活性成分构型的变化。即使已证明原料药的构型在一般情况下是稳定的，也不能保证其与制剂中各辅料共存时，在特定的制剂工艺条件（酸、碱、溶液状态、高温等）下，构型仍然稳定。所以，仍有必要在制剂中监测其构型的稳定性。

八、名词解释

绝对构型(Absolute Configuration): 手性分子中，不对称中心上各个取代基在空间的排列。本文中简称构型。

相对构型 (Relative Configuration): 手性分子中，不对称中心的构型是通过与已知构型的手性中心或物质相比较而得到的。

R构型(R Configuration): 手性分子中，连接到不对称中心碳原子上的不同原子或基团 a, b, c, d, 以 $a > b > c > d$ 顺序排列。如果

从中心碳原子到最小的基团 d 方向,观察到 $a \rightarrow b \rightarrow c$ 是顺时针方向,则这个碳中心的构型被定义为 R 。

S 构型(S Configuration): 手性分子中,当连接到不对称中心碳原子上的 a, b, c, d 是不同基团时,以 $a > b > c > d$ 顺序排列。如果从中心碳原子到最小的基团 d 方向,观察到 $a \rightarrow b \rightarrow c$ 是逆时针方向,则这个碳中心的构型被定义为 S 。

注: 其它元素如 P, S, N 等或其它手征性形式的绝对构型的表示方法请参考相关专业书籍。

对映异构体(Enantiomers): 其分子为互相不可重合的镜象的立体异构体。

非对映异构体(Diastereoisomers): 对于分子中具有二个或多个不对称中心,并且其分子互相不为镜象的立体异构体,常简称为“非对映体”。

外消旋体(Racemate): 由等量的两个对映体组成的混合物。由于其作用相互抵消,因此表现为不能使偏振光旋转,因而无光学活性。

左旋体 (Levorotatory): 当偏振光通过旋光性物质时,能使偏振光振动平面按逆时针旋转的立体异构体; 以 $(-)$ 表示。

右旋体 (Dextrarotatory): 当偏振光通过旋光性物质时,能使偏振光振动平面按顺时针旋转的立体异构体,以 $(+)$ 表示。

光学纯度(Optical purity): 根据实验测定的旋光度,在两个立体异构体混合物中,一个异构体所占的百分数。现在常用对映体或非对映体纯度来代替。

九、参考文献

-
1. 黄晓龙.浅谈在立体异构体新药的研究中需注意的问题. 中国新药杂志, 2001, 10(1): 65~67。
 2. 杜玉民, 刘伟娜, 白希瑞.手性药物. 临床荟萃, 2003, 18(20), 1196 - 1197。
 3. 尤启冬, 林国强.手性药物——研究与应用. 化学工业出版社, 2004, 北京。
 4. 黄晓龙. 美国FDA关于开发立体异构体新药的政策简介. 中国新药杂志, 2000, 9 (9) 650~652。
 5. 林国强, 陈耀全, 陈新滋, 等.手性合成——不对称反应及其应用 (第二版). 科学出版社, 2005, 北京。