

# 维兰特罗关键中间体及有关物质的高效液相色谱分析方法优化

王敬赫<sup>1</sup>, 邓少欢<sup>1</sup>, 高俊<sup>1</sup>, 许坤<sup>2</sup>, 王红磊<sup>2</sup>, 张文成<sup>1</sup>, 吴泽宇<sup>1</sup>, 惠爱玲<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽 合肥

<sup>2</sup>安徽德信佳生物医药有限公司, 安徽 阜阳

收稿日期: 2021年9月19日; 录用日期: 2021年10月8日; 发布日期: 2021年11月1日

## 摘要

维兰特罗是一种治疗慢性阻塞性肺病(COPD)的 $\beta_2$ 受体激动剂, 其起效作用快、持续时间长、耐受性好而备受关注。2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羰基乙基氨基甲酸叔丁酯是合成维兰特罗的关键中间体之一, 德信佳生物医药公司开发了一种绿色合成工艺, 该路线经由五步反应, 共涉及5个中间产物, 即中间体1、2、3、4、5。本研究拟建立关键中间体5 (2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羰基乙基氨基甲酸酯)及其有关物质(或杂质)的HPLC分析方法, 通过流动相组成及比例、检测波长等条件筛选与优化, 中间体1、2、4、5主成分及有关物质可以实现有效分离; 利用上述建立的HPLC方法, 对两批次中间体5产品的有关物质进行分析, 并采用峰面积归一化法计算含量。它们均检测到三个有关物质, 其总和低于1.5%, 该研究为后续关键中间体及原料药中有关物质的制备分离、结构推测及定量分析提供了方法参考。

## 关键词

维兰特罗, 中间体, 有关物质, 高效液相色谱

# Optimization of HPLC Method for the Analysis of Key Intermediate of Vilanterol and Its Related Substances

Jinghe Wang<sup>1</sup>, Shaohuan Deng<sup>1</sup>, Jun Gao<sup>1</sup>, Kun Xu<sup>2</sup>, Honglei Wang<sup>2</sup>, Wencheng Zhang<sup>1</sup>, Zeyu Wu<sup>1</sup>, Ailing Hui<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei Anhui

<sup>2</sup>Anhui Dexinjia Biopharm Co., Ltd., Fuyang Anhui

Received: Sep. 19<sup>th</sup>, 2021; accepted: Oct. 8<sup>th</sup>, 2021; published: Nov. 1<sup>st</sup>, 2021

\*通讯作者。

文章引用: 王敬赫, 邓少欢, 高俊, 许坤, 王红磊, 张文成, 吴泽宇, 惠爱玲. 维兰特罗关键中间体及有关物质的高效液相色谱分析方法优化[J]. 药物化学, 2021, 9(4): 125-136. DOI: 10.12677/hjmce.2021.94016

## Abstract

Vilanterol, a  $\beta_2$  receptor agonist inhibiting chronic obstructive pulmonary disease (COPD), has been respected for rapid effect, long duration and good tolerance. 2-(2,2-dimethyl-4H-1,3-benzodioxane heterocyclohexene-6-yl)-2-carbonyl ethyl carbamate is one of the key intermediates of vilanterol, which has developed by Dexinjin Biopharm Co., Ltd. The green preparation route is divided into five-step reactions involving five intermediates, namely intermediate 1, 2, 3, 4, 5. In this study, the HPLC analysis method of intermediate 5 (2-(2,2-dimethyl-4H-1,3-benzodioxane heterocyclohexene-6-yl)-2-carbonyl ethyl carbamate) and its related substances (or impurities) was optimized mainly through the composition and proportion of mobile phase and detection wavelength. As a result, the intermediate 1, 2, 4, 5 and related substances can be effectively separated. Using the established HPLC method, the related substances of two batches of intermediate 5 were analyzed, three major related substances were detected and the total content was less than 1.5% according to the peak area normalization. These investigations provided experimental methods for the further preparation, structural speculation and quantitative analysis of related substances in the key intermediates and raw drugs of vilanterol.

## Keywords

Vilanterol, Intermediate, Related Substance, High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

维兰特罗(Vilanterol, 图 1)是美国葛兰素史克公司(GSK)研发的治疗慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)药物。它作为一种新型吸入型长效  $\beta_2$  激动剂类支气管扩张药, 与传统的沙美特罗相比, 其起效作用更快、作用时间更持久; 对  $\beta_2$ -受体具有高度选择性, 其对  $\beta_2$ -受体的亲和力比  $\beta_1/\beta_3$  受体高 1000 倍[1]; 且临床使用耐受性和安全性均良好[2], 被公认为止咳化痰首选药物。

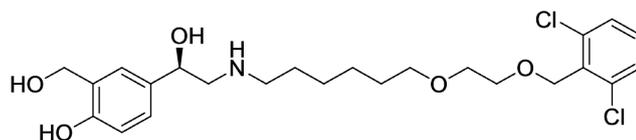


Figure 1. The structure of vilanterol

图 1. 维兰特罗结构式

GSK 公司于 2005 年公开维兰特罗合成工艺[3] [4]; 随后, Laurus 实验室[5]及国内一些研究单位[6] [7] 相继报道了一些合成方法, 其降低了成本, 更易于工业化生产。然而, 维兰特罗合成工艺仍存在路线长、条件苛刻、污染高、有机溶媒难去除等难题, 这给原料药及其中间体质量控制带来技术上的困难。

维兰特罗现有合成工艺中, (5R)-5-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-1,3-噁唑烷-2-酮(图 2(a))是关键中间体之一, 以 2-溴-1-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)乙酮(GSK 报道, 图 2(b))或以水杨醛为起始原料经过一系列反应获得。安徽德信佳生物医药公司开发了维兰特罗关键中间体

2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羧基乙基氨基甲酸叔丁酯(图2(c),经环合反应得到图2(a)化合物)绿色制备工艺(图3) [8] [9]。该路线以水杨醛为起始原料经历傅克酰基化反应得到中间产物1,之后在质子与非质子溶剂混合溶剂中还原,有效提高了中间产物2的选择性[8];接下来,借助季宗德报道的德尔宾反应及氨基保护得到中间产物4 [7];最后,利用固体酸代替有机强酸得到关键中间体5 [9],即2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羧基乙基氨基甲酸叔丁酯。该工艺实现了催化剂回收套用,减轻了环保压力,符合现代绿色工业化生产的要求。维兰特罗关键中间体及其有关物质分析是实施维兰特罗原料药质量控制的前提和关键步骤,这为后续维兰特罗原料药规模化生产及制剂开发提供了重要的技术支持。

色谱技术是原料药中有关物质(或杂质)分析的常用方法之一[10] [11],如:高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC),其分离效率高,灵敏度高,分析速度快,但不能直接分析未知物;若与质谱联用,可借助质谱的离子碎片推测某些未知物结构。

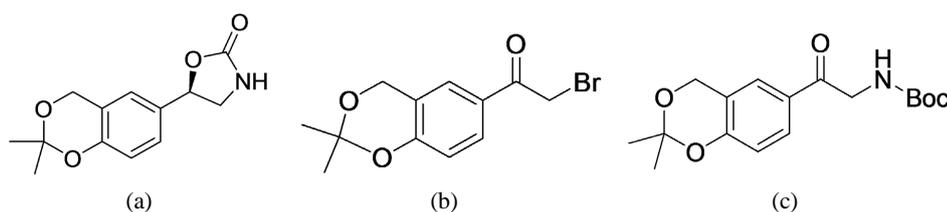


Figure 2. Some key intermediates of vilanterol  
图2. 维兰特罗的一些关键中间体

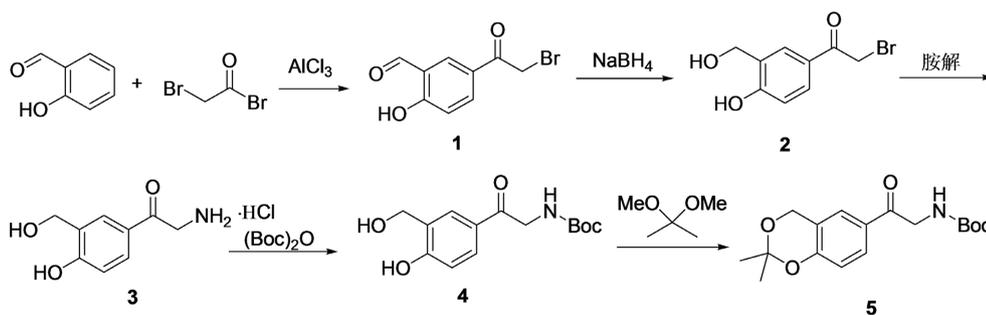


Figure 3. The synthetic route of key intermediates of vilanterol  
图3. 维兰特罗关键中间体的合成路线

在奥达特罗有关物质研究中,王术兰等[12]采用 Sapphire C18 色谱柱,以 10 mmol/L 磷酸二氢钠溶液为流动相 A,乙腈为流动相 B 进行梯度洗脱,流速为 1 mL/min,检测波长为 220 nm,柱温 30℃,分离出奥达特罗中的 5 种有关物质,继而采用液质联用法与上述 HPLC 方法分析鉴定了其中两种有关物质结构。

本研究拟借助配二极管阵列检测器的液相色谱系统对关键中间体 5 进行质量分析,逐步建立关键中间体及有关物质的 HPLC 分析方法,为后续的制备色谱富集有关物质、液质联用分离鉴定有关物质结构提供方法参考。

## 2. 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪系列, Agilent 600MHZ 超导核磁共振波谱仪, LC-20A 岛津制备色谱仪, SHZ-D(III)循环水式真空泵, PHS-3C pH 计, PWN124ZH/E 精密电子天平, MTN-2800W 氮吹浓缩装置; 磷酸二氢钾(广东·汕头市西陇化工厂)、磷酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 纯化水(娃哈哈

集团)、甲醇(色谱级, 国药集团化学试剂有限公司)、乙腈(色谱级, 国药集团化学试剂有限公司)、微孔滤膜(孔径 0.45/0.22  $\mu\text{m}$ , 上海兴亚净化材料厂)、有机滤头(尼龙 66, 0.22  $\mu\text{m}$ , 津腾)、一次性使用无菌注射器(河南曙光汇知康生物科技有限公司); 维兰特罗各中间体 1、2、4、5 (德信佳公司自制, 经  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、MS 鉴定为目标结构, HPLC 纯度 98% 以上)。

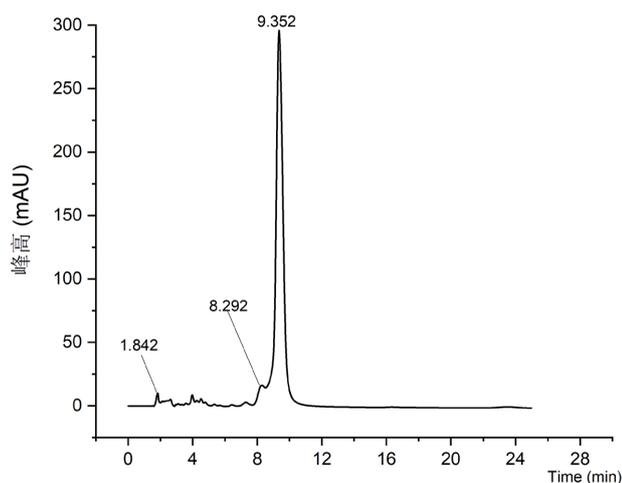
### 3. 方法与结果

关键中间体 5 (2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羰基乙基氨基甲酸叔丁酯)合成过程涉及前述的中间产物 4、3、2、1, 它们作为关键中间体 5 合成的原料之一, 在反应的各步骤中均有可能以有关物质或杂质形式存在于关键中间体 5 中, 因此有必要对各个中间体分别进行 HPLC 分析。

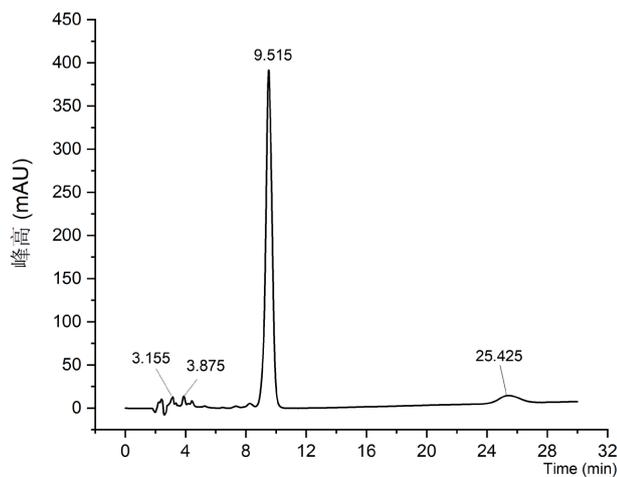
#### 3.1. 中间体 1 及有关物质分析方法的筛选

##### 3.1.1. 流动相筛选

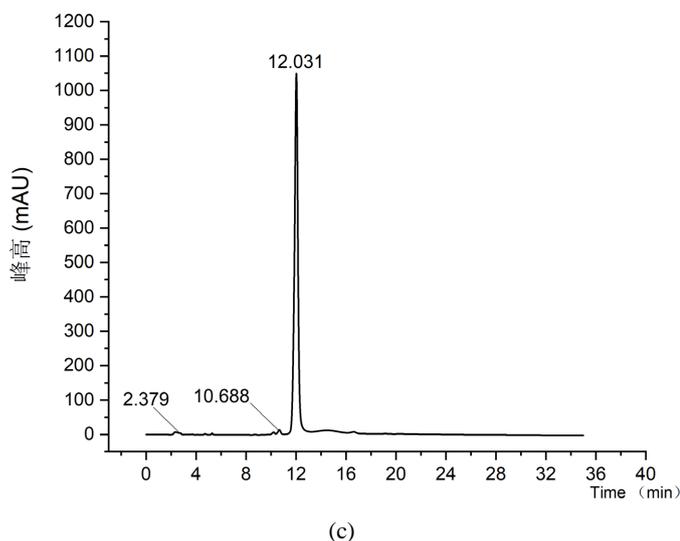
称取约 1~5 mg 维兰特罗中间产物 1 (5-(2-溴乙酰基)-2-羟基苯甲醛)置 50 mL 容量瓶中, 以乙腈 - 水为溶剂, 超声溶解, 配置浓度约 0.02~0.10 mg/mL 的待测溶液, 过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜后进入高效液相色谱系统 (HPLC) 系统分析。Agilent 1260 配置柱温箱、二极管阵列检测器(190~800 nm)。



(a)



(b)



**Figure 4.** Chromatogram of intermediate 1 and its related substances in different mobile phase

**图 4.** 中间体 1 及其有关物质在不同流动相体系下的色谱图

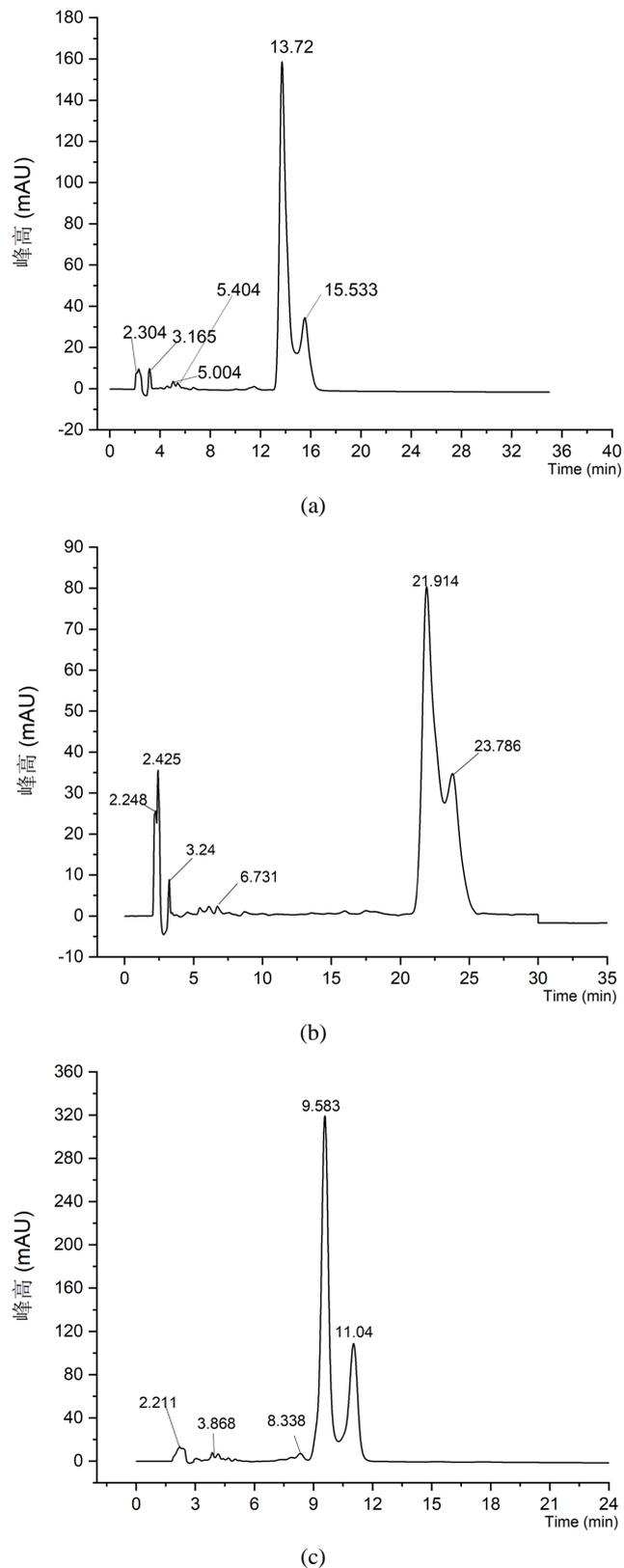
使用同一色谱柱(Agilent ZORBAX SB-C18, 5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm)、相同柱温(30 $^{\circ}\text{C}$ )及流速(1.0 mL/min), 分别采用乙腈-水及缓冲盐(40:60, V/V), 于 220 nm 波长下测定中间体 1 及有关物质, 比较不同流动相的专属性。

图 4 列出了乙腈-水(a)、乙腈-醋酸铵(pH 4.0) (b)及乙腈-磷酸二氢钾盐(pH 4.0) (c)组成对中间体 1 及有关物质分离情况的影响。结果表明: 在同一洗脱比例(40:60)下, 不同流动相组成对中间体 1 保留时间有一定影响, 其中乙腈-水磷酸盐缓冲体系中主峰保留时间(RT = 12.03 min)远大于乙腈-水(RT = 9.35 min)或乙腈-醋酸铵体系(RT = 9.52 min)。此外, 在乙腈-醋酸铵体系中, 我们在运行 25 min 后检测到一个有关物质吸收峰, 当把其余两种体系运行时间设定 25 min 或 35 min, 在主峰后均未检测到任一有关物质吸收峰。另一方面, 将乙腈-水与乙腈-磷酸盐缓冲体系对中间体 1 有关物质分离效果进行对比可知: 即使在浓度较低(约 0.02 mg/mL)时, 中间体 1 主峰(RT = 9.35 min)与有关物质(RT = 8.29 min)并未实现有效分离(图 4(a)), 而在乙腈-磷酸盐体系中, 主峰(RT = 12.03 min)与其相邻的有关物质(RT = 10.69 min)基本可实现基线分离。因此, 后续的色谱条件优化选择乙腈-磷酸二氢钾这一流动相组合进行。

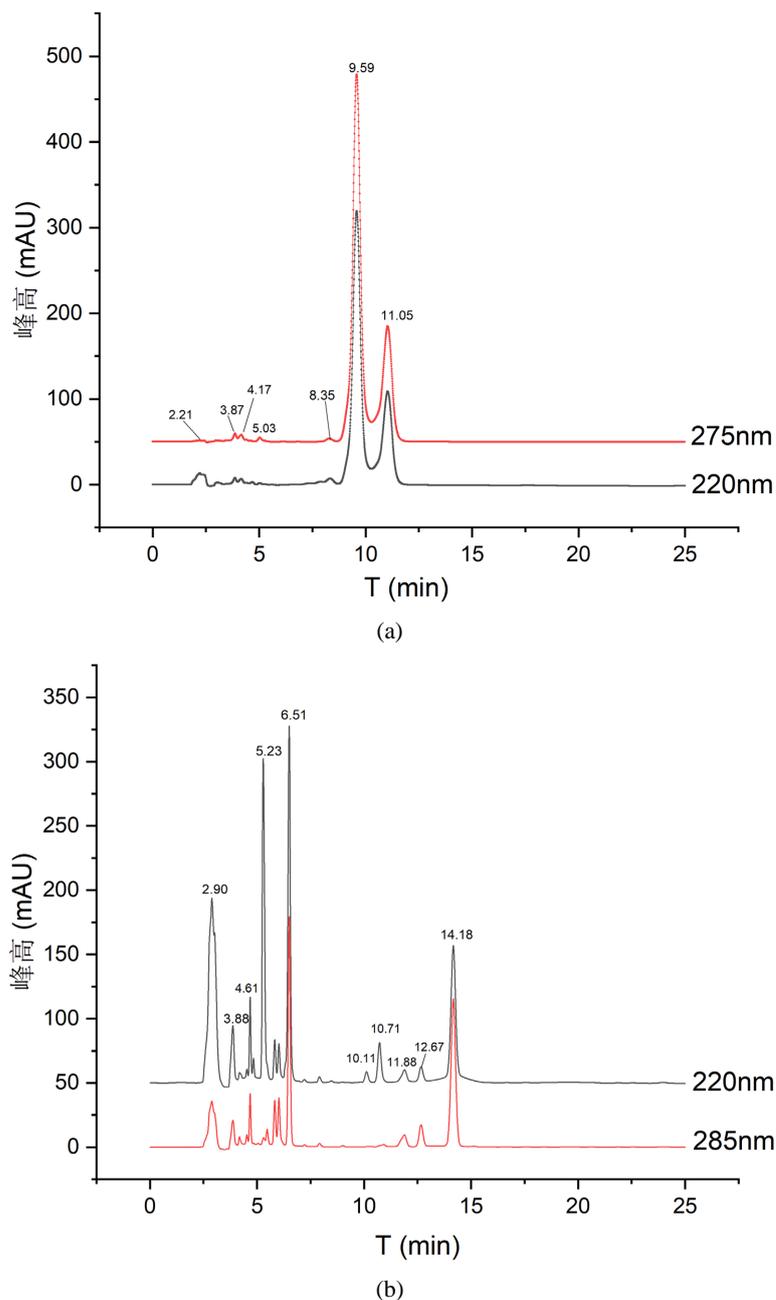
### 3.1.2. 洗脱剂比例优化

以乙腈-磷酸二氢钾缓冲盐(pH 3.9~4.0)体系, 于 220 nm 波长下测定中间体 1 及有关物质, 比较流动相配比对中间体 1 及其有关物质的分离效果。图 5 为流动相比例分别为 35:65 (a)、30:70 (b)及 40:60~35:65 梯度洗脱(c)条件下的色谱图。

由图 5 及图 4(c)可知, 随着流动相洗脱强度由 40:60 逐渐降至 35:65、30:70, 主峰保留时间逐渐延长(12.03 $\rightarrow$ 13.72 $\rightarrow$ 21.91 min), 且逐步裂分为明显的双峰。在这三种洗脱比例下, 主峰与各有关物质均可达到良好分离, 能检测出来的有关物质吸收峰个数为 2~4 个; 流动相比例在 30:70 条件下运行时间过长(30 min), 故, 尝试在 40:60 及 35:65 之间进行梯度洗脱, 即 0~8 min (40:60); 8~25 min (40:60 $\rightarrow$ 35:65), 中间体 1 主峰(RT = 9.58 min)与可能存在的 3 个有关物质(RT = 2.21, 3.37, 8.34 min)可达良好分离; 而采用 35:65 等度洗脱, 基本可检出 2 个有关物质, 因此后续检测条件选择乙腈-磷酸二氢钾缓冲液比例在 35:65 附近, 优选梯度洗脱。



**Figure 5.** Chromatogram of intermediate 1 and its related substances in different elution condition  
**图 5.** 中间体 1 及有关物质在不同洗脱比例下的液相色谱图



**Figure 6.** Chromatogram of intermediate 1 and its related substances in different detection wavelength

**图 6.** 中间体 1 及有关物质在不同检测波长下的液相色谱图

### 3.1.3. 检测波长选择

以上研究确立了中间体 1 及有关物质达到有效分离的流动相组成和适宜比例。接下来, 结合二极管阵列检测器对 HPLC 色谱峰所对应物质的紫外吸收光谱图, 中间体 1 主峰紫外吸收光谱  $\lambda_{\max} = 280 \text{ nm}$  附近, 而三个有关物质  $\lambda_{\max} = 215 \sim 220 \text{ nm}$  附近。于是, 调整中间体 1 及有关物质的紫外检测波长为 220 nm、275 nm, 在保证主峰吸收强度前提下, 尽量选择杂质峰个数多及各杂质相对吸收强度较大的检测波长, 便于后续有关物质制备色谱分离及提高检测时灵敏度。

图 6(a)为中间体 1 及其共存的有关物质在 220 nm、275 nm 下的 HPLC 色谱图,洗脱条件为乙腈-磷酸二氢钾(40:60→35:65)梯度洗脱。与占绝对优势的中间体 1 相比而言,三个有关物质的吸收强度在两个检测波长下均非常低,故无法判断检测波长对于中间体 1 中有关物质 HPLC 分析检测的影响。针对此情况,我们借助 HPLC 的色谱分离条件,尝试采用制备色谱对中间体 1 的有关物质进行了分段收集和部分浓缩富集,图 6(b)为某一段洗脱液氮吹浓缩后分别在 220 nm、285 nm 下进行 HPLC 分析,由图可知:经制备色谱富集后,中间体 1 中有关物质种类或个数明显增多,以 220 nm 下检出色谱峰个数较多;且对于 220 nm、285 nm 的共有吸收峰(保留时间能够重叠)而言,220 nm 下吸收强度普遍高于 285 nm,故后续有关物质分析时检测波长优选 220 nm。

### 3.2. 维兰特罗中间体 2、4、5 的 HPLC 分析

借鉴中间体 1 及有关物质 HPLC 分析方法筛选过程,逐步对其它中间体及有关物质 HPLC 分析方法进行研究。由于中间产物 3 未进一步纯化,直接投入下一步反应得到中间产物 4,中间体 4 进行了纯化处理,故不再对中间体 3 粗品进行有关物质分析方法研究。

#### 3.2.1. 中间体 2 HPLC 分析

中间体 2 (2-溴-1-[4-羟基-3-(羟甲基)苯基]-1-乙酮)及有关物质 HPLC 分析的色谱条件为:

流动相:乙腈:磷酸二氢钾缓冲盐(pH 3.5)(25:75)等度洗脱;检测波长:220 nm;分析时间:15 min。在上述条件下,中间体 2 的完整色谱如图 7 所示。

#### 3.2.2. 中间体 4 HPLC 分析

中间体 4 (N-[2-(4-羟基-3-羟甲基苯基)-2-氧代乙基]-1-氨基甲酸叔丁酯)及有关物质 HPLC 分析的色谱条件为:

流动相:乙腈:磷酸二氢钾缓冲盐(pH 3.5)(35:65)等度洗脱;检测波长:220 nm;分析时间:15 min。在上述条件下,中间体 4 的完整色谱图如图 8 所示。

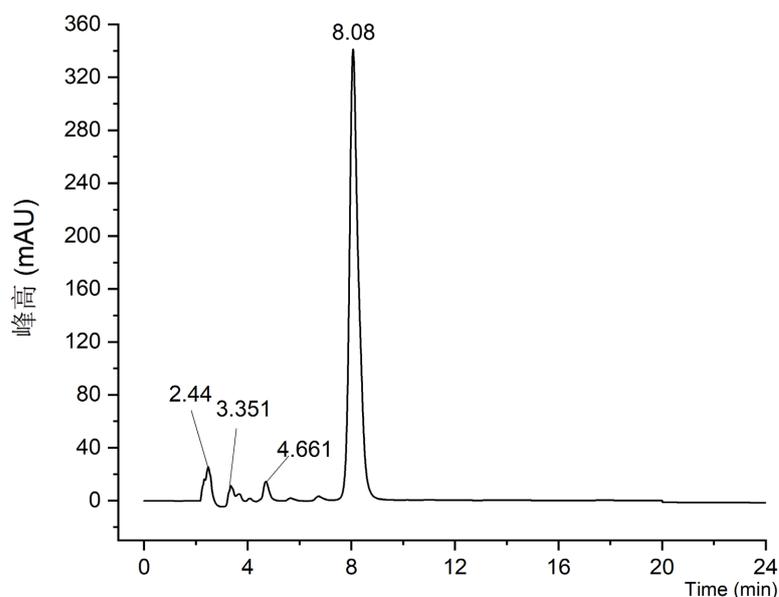
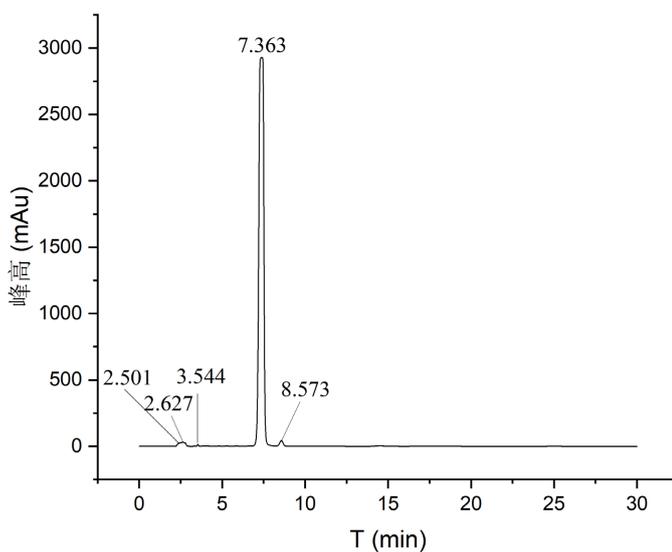


Figure 7. Chromatogram of intermediate 2 and its related substances

图 7. 中间体 2 及有关物质分析液相色谱图



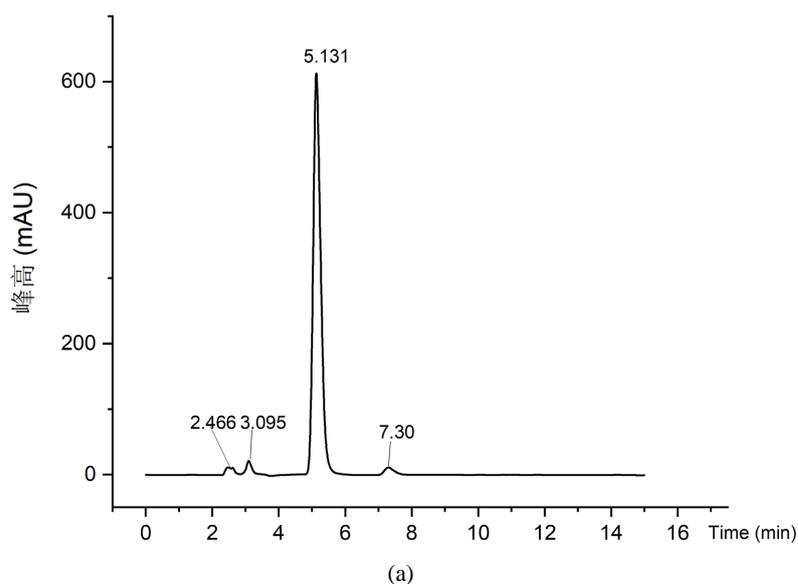
**Figure 8.** Chromatogram of intermediate 4 and its related substances  
**图 8.** 中间体 4 及有关物质分析的液相色谱图

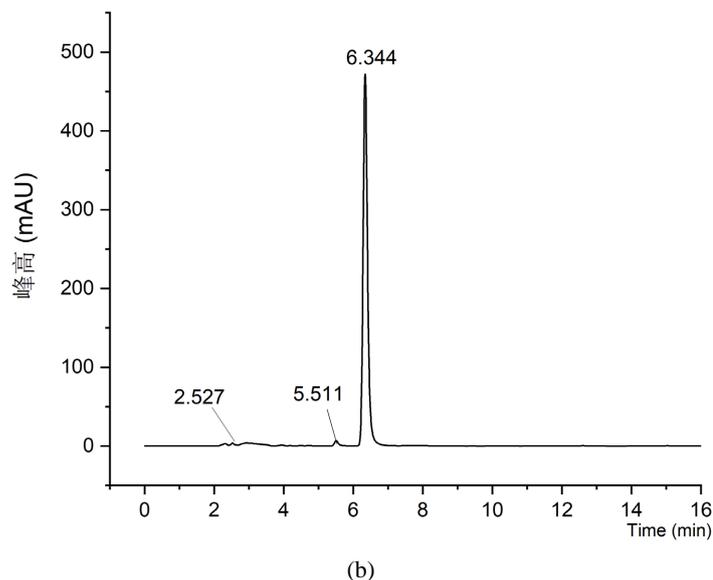
### 3.2.3. 中间体 5 HPLC 分析

中间体 5 (2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羰基乙基氨基甲酸叔丁酯)及有关物质 HPLC 分析的色谱条件为:

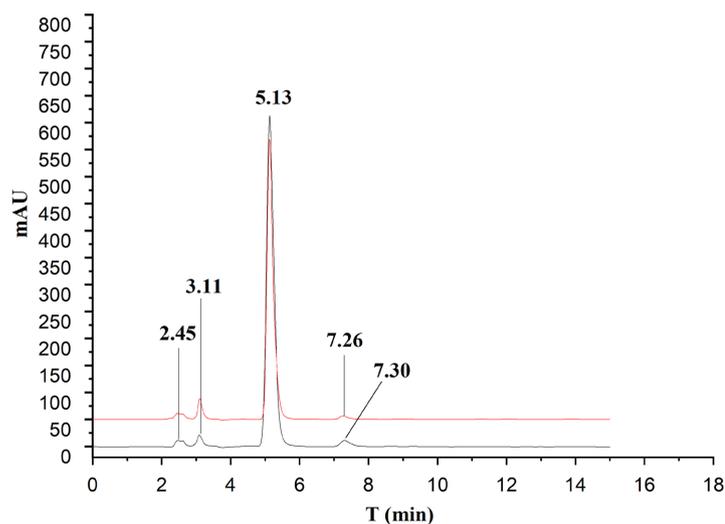
流动相: 甲醇: 磷酸二氢钾缓冲盐(pH 4.0) = 80:20 或乙腈:磷酸二氢钾缓冲盐(pH 4.0) (70:30)等度洗脱; 检测波长: 220 nm; 分析时间: 15 min。

在上述两种流动相洗脱条件下, 中间体 5 的完整色谱分别如图 9(a)、图 9(b)所示。由图可知, 尽管 220 nm 检测时, 乙腈的溶剂峰干扰可能略低于甲醇, 但在甲醇-磷酸盐缓冲体系可检测到 3 个明显的有关物质吸收峰, 故, 中间体 5 的检测优选甲醇-磷酸二氢钾体系。另一方面, 结合对中间体 1、2、4、5 及有关物质 HPLC 分析可以推测: 前述中间产物 1、2、4 主成分以有关物质存在于关键中间体 5 的可能性甚微。





**Figure 9.** Chromatogram of intermediate 5 and its related substances  
**图 9.** 中间体 5 及有关物质分析的液相色谱图



**Figure 10.** Chromatogram of two batches of intermediate 5 related substance content analysis HPLC  
**图 10.** 两批次中间体 5 有关物质含量分析 HPLC 色谱图

### 3.3. 维兰特罗关键中间体 5 产品的有关物质分析

利用上述建立的维兰特罗中间体及有关物质的 HPLC 分析方法, 采用峰面积归一化法对两批次中间体 5 产品中有关物质含量进行分析检测, HPLC 色谱如图 10 所示。由图可知, 两批次样品中均出现三个有关物质且保留时间(2.45 min、3.11 min 及 7.26~7.30 min)基本吻合, 其总面积和占比分别达到 1.43%和 1.35%。

与此同时, 对关键中间体 5 进行核磁共振氢谱复测(图 11), 确认其为目标结构:  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 1.47 (s, 9H, t-Bu), 1.56 (s, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 4.59 (d,  $J = 4.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.88 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 5.55 (br, NH), 6.88 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ph) 7.66 (s, 1H, Ph), 7.89 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ph)。

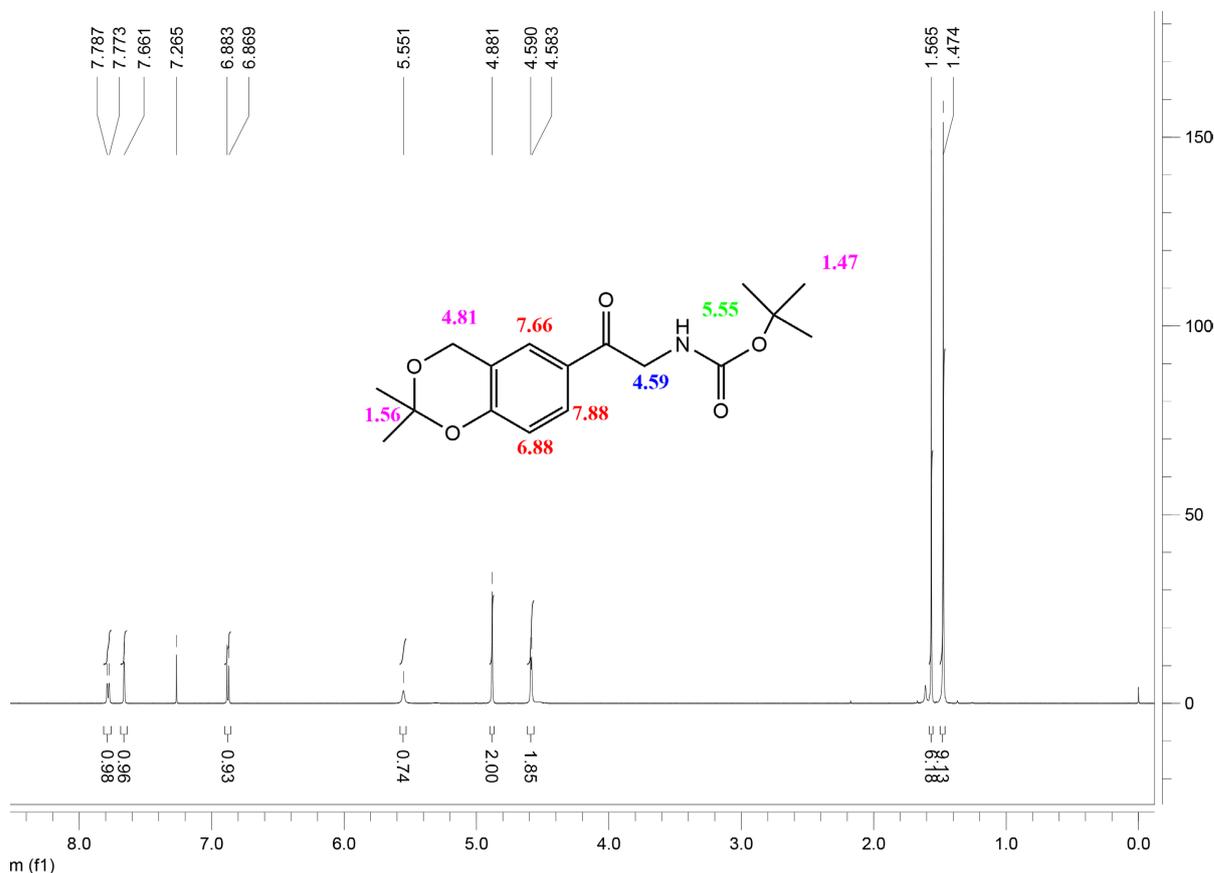


Figure 11.  $^1\text{H}$  NMR of intermediate 5 of vilanterol

图 11. 维兰特罗关键中间体 5 的核磁共振氢谱图

#### 4. 结论

本文初步建立了维兰特罗关键中间体 5 (2-(2,2-二甲基-4H-1,3-苯并二氧杂环己烯-6-基)-2-羰基乙基氨基甲酸叔丁酯)及有关物质的 HPLC 分析方法,该方法专属性好,灵敏度较高,分析时间基本控制在 15 min 内。由于维兰特罗及其医药中间体的色谱检测无合适参考文献,因此本研究对后续中间体及原料药中有关物质定性分析、杂质制备、结构推测及其定量分析提供了实验方法参考。

#### 基金项目

安徽省阜阳市科技重大专项(FK20208015)。

#### 参考文献

- [1] Slack, R.J., Barrett, V.J., Morrison, V.S., Sturton, R.G., Emmons, A.J., Ford, A. and JKnowles, R.G. (2013) *In Vitro* Pharmacological Characterization of Vilanterol, a Novel Long-Acting  $\beta_2$ -Adrenoceptor Agonist with 24-Hour Duration of Action. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **344**, 218-230. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.198481>
- [2] Lötval, J., Bateman, E.D., Bleecker, E.R., Busse, W.W., Woodcock, A., Follows, R., Lim, J., Stone, S., Jacques, L. and Haumann B. (2012) 24-h Duration of the Novel LABA Vilanterol Trifenatate in Asthma Patients Treated with Inhaled Corticosteroids. *The European Respiratory Journal*, **40**, 570-579. <https://doi.org/10.1183/09031936.00121411>
- [3] Box, P.C., Coe, D.M., Looker, B.E., Procopiou, P.A. and Mann, I.S. (2003) Phenethanolamine Derivatives for Treatment of Respiratory Diseases. WO Patent No. 2003024439.
- [4] Procopiou, P.A., Barrett, V.J., Bevan, N.J., Biggadike, K., Box, P.C., Butchers, P.R., Coe, D.M., Conroy, R., Emmons,

- A., Ford, A.J., Holmes, D.S., Horsely, H., Kerr, F., Anne-Marie, L., Looker, B.E., Mann, I.S., Mclay, I.M., Morrison, V.S., Mutch, P.J., Smith, C.E. and Tomlin, P. (2010) Synthesis and Structure-Activity Relationships of Long-Acting  $\beta_2$  Adrenergic Receptor Agonists Incorporating Metabolic Inactivation: An Antedrug Approach. *Journal of Medicinal Chemistry*, **53**, 4522-4530. <https://doi.org/10.1021/jm100326d>
- [5] Dammalapati, V.L.N.R., Mudduluru, H.K. and Aduri, R. (2014) An Improved Process for the Preparation of Vilanterol and Intermediates Thereof. WO Patent No. 2014041565.
- [6] 季宗德, 杨玉雷, 蒋慧娟, 莫利英, 朱雪焱[P]. 中国专利, 105646285A. 2016-06-08.
- [7] 王卓春. 维兰特罗关键中间体合成新方法[J]. 广东化工, 2018, 45(5): 9.
- [8] 郑庚修, 汪崇文, 高令峰, 张启龙, 卢伟阳. 一种在混合溶剂中合成维兰特罗中间体的方法[P]. 中国专利, 109574817A. 2019-04-05.
- [9] 王红磊, 许坤, 张启龙, 汪崇文, 林建华. 一种固体酸催化合成维兰特罗中间体的方法[P]. 中国专利, 109574982A. 2019-04-05.
- [10] Munster-Muller, S., Zimmermann, R. and Putz, M. (2018) A Novel Impurity-Profiling Workflow with the Combination of Flash-Chromatography, UHPLC-MS and Multivariate Data Analysis for Highly Pure Drugs: A Study on the Synthetic Cannabinoid MDMB-CHMICA. *Analytical Chemistry*, **90**, 10559-10567. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02679>
- [11] 龚珊. 色谱技术在原料药杂质分析中的应用[J]. 化工设计通讯, 2019, 45(6): 200-201.
- [12] 王术兰, 唐克慧, 张春然, 王宇驰, 祝淳君, 王瑛瑛. 梯度洗脱 HPLC 测定奥达特罗的有关物质[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(4): 483-488.