HPLC 法同时测定苏沃雷生原料药中 7 种杂质

齐敬敬[1]，陈凤琴[1]，孙春艳[1*]，吕慧敏[2]，王如伟[2*]
（1. 扬子江药业集团有限公司，江苏泰州 225300；2. 克服递药屏障高端制剂全国重点实验室，江苏泰州 225300）

摘要：建立了高效液相色谱法测定苏沃雷生（**1**）原料药中的杂质。采用 Waters XBridge C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，3.5 μm），以 0.1%三氟乙酸溶液和乙腈为流动相进行梯度洗脱，在流速 1.0 mL/min、柱温 50 ℃、检测波长 254 nm、进样量 15 μL 的条件下进行分离。结果表明，**1** 及其 7 个已知工艺杂质 SM3、M1、B、C、D、E、F 之间的分离度良好，**1** 峰与相邻杂质峰以及各杂质峰间均能达到基线分离。7 种杂质在各自质量浓度范围内与相应峰面积的线性关系良好（r>0.999 0）；平均加样回收率为 97.5%～100.8%，RSD 为 0.6%～2.2%。该法灵敏度高、操作简便、准确、可靠，可用于 **1** 原料药中 7 种工艺杂质的测定。

关键词：苏沃雷生；高效液相色谱法；杂质；质量控制
中图分类号：R917；R971^{+}.3　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)06-0692-06
引用：齐敬敬, 陈凤琴, 孙春艳, 等. HPLC法同时测定苏沃雷生原料药中7种杂质[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(6): 692-697. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.06.010

Simultaneous Determination of Seven Impurities in Suvorexant Bulk Drug by HPLC

QI Jingjing[1], CHEN Fengqin[1], SUN Chunyan[1*], LYU Huimin[2], WANG Ruwei[2*]
(*1. Yangtze River Pharmaceutical Group, Taizhou 225300; 2. National Key Lab. of Advanced Drug Formulations for Overcoming Delivery Barriers, Taizhou 225300*)

ABSTRACT: An HPLC method for analyzing impurities in suvorexant bulk drug was established. Chromatographic separation was carried out on a Waters XBridge C_{18} column (4.6 mm×250 mm, 3.5 μm) with a mobile phase consisting of 0.1% trifluoroacetic acid solution and acetonitrile for gradient elution. The flow rate was set at 1.0 mL/min, the column temperature was maintained at 50 ℃, the detection wavelength was 254 nm, and the injection volume was 15 μL. The chromatographic peaks of **1** and its seven known process impurities (SM3, M1, B, C, D, E, and F) exhibited good resolution. Baseline separation was achieved between **1** and its adjacent impurities, as well as among all impurity peaks. Good linear relationships were observed between the peak areas and the mass concentrations of the seven impurities, with linear correlation coefficients all above 0.9990. The average recoveries were 97.5% - 100.8% with the RSDs of 0.6% - 2.2%. This method is sensitive, simple and accurate for the simultaneous determination of seven impurities in **1** bulk drug.

Key Words: suvorexant; HPLC; impurity; quality control

苏沃雷生（suvorexant，**1**）是首个上市的食欲素受体拮抗药，用于治疗入睡困难或睡眠维持困难型失眠，其片剂于 2014 年 8 月在美国首次获批上市，2014 年 9 月在日本获批，主要规格为 5、10、15 及 20 mg。**1** 片在国内暂未获批上市，目前有企业正在开展临床研究（登记号：CTR20222333）。食欲素主要参与食欲调节和睡眠 - 觉醒周期调控。**1** 通过抑制食欲素受体，改变食欲素在脑部的信号作用而促进睡眠[1]。该作用机制导致 **1** 靶向性较高、作用部位较为局限，具有停药后无戒断症状等优点，不良反

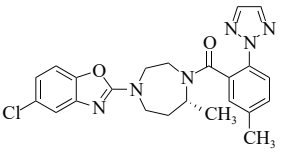
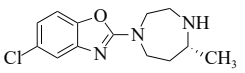
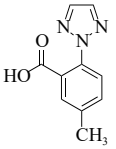
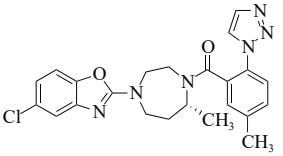
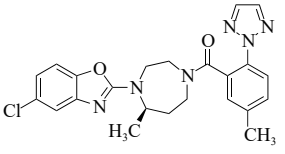
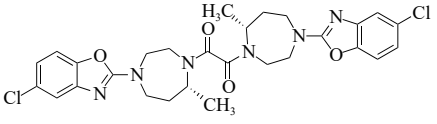
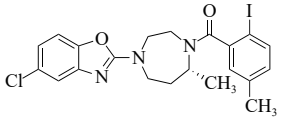
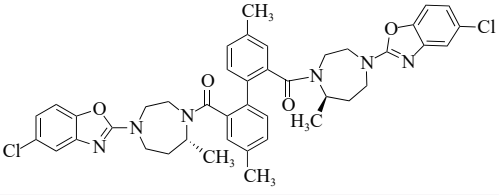
收稿日期：2025-09-15
作者简介：齐敬敬，硕士，从事药物分析研究。
通信作者：孙春艳，硕士，副主任药师，从事药物质量研究。
王如伟，博士生导师，教授级高级工程师，从事中药、化药新药的开发。

应比苯二氮䓬类药物少，市场前景较为广阔[2-3]。

目前 ChP、USP、EP、《日本药局方》的现行版本中均未收载 **1** 原料药或制剂的质量控制方法。经查询，专利[4]报道采用 HPLC 法测定 **1** 的杂质，但无法有效分析相关工艺杂质。为了更全面地控制产品质量，急需开发检测 **1** 杂质的方法。本研究针对 **1** 原料药在生产过程中可能产生的副产物或中间体等杂质，建立了 HPLC 法。本品最大日服剂量为 20 mg，根据 ChP 2025 年版四部通则 9102“药品杂质分析指导原则”的要求，已知杂质限度不得过 0.15%，未知杂质不得过 0.10%，拟定总杂不得过 0.5%。参考文献[5-7]，选择以高哌嗪为中间体的工艺路线合成 **1**。根据相关杂质谱分析结果，对 **1** 中可能存在的杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 进行研究。**1** 及上述 7 种杂质的信息如表 1 所示。

表 1　1 原料药中的主要杂质信息

Tab.1　Main Impurities in **1** Bulk Drug

化合物	化学名称	分子式	化学结构	类型
1	5- 氯 -2-［(5*R*)-5- 甲基 -4-［5- 甲基 -2-(2*H*-1,2,3- 三唑 -2- 基) 苯甲酰基]-1,4- 二氮杂环庚烷 -1- 基]-1,3- 苯并［*d*］噁唑	$C_{23}H_{23}ClN_6O_2$		API
杂质 SM3	5- 氯 -2-［(5*R*)- 六氢 -5- 甲基 -1*H*-1,4- 二氮杂䓬 -1- 基 ］苯并噁唑	$C_{13}H_{16}ClN_3O$		工艺杂质
杂质 M1	5- 甲基 -2-(2*H*-1,2,3- 三唑 -2- 基) 苯甲酸	$C_{10}H_9N_3O_2$		工艺杂质
杂质 B	5- 氯 -2-［(5*R*)-5- 甲基 -4-［5- 甲基 -1-(1*H*-1,2,3- 三唑 -1- 基) 苯甲酰基]-1,4- 二氮杂环庚烷 -1- 基]-1,3- 苯并噁唑	$C_{23}H_{23}ClN_6O_2$		工艺杂质
杂质 C	5- 氯 -2-［(7*R*)-7- 甲基 -4-［5- 甲基 -2-(2*H*-1,2,3- 三唑 -2- 基) 苯甲酰基]-1,4- 二氮杂环庚烷 -1- 基]-1,3- 苯并噁唑	$C_{23}H_{23}ClN_6O_2$		工艺杂质
杂质 D	1,2- 双［(*R*)-4-(5- 氯苯并［*d*］噁唑 -2- 基)-7- 甲基 -1,4- 二氮杂环庚 -1- 基 ］乙烷 -1,2- 二酮	$C_{28}H_{30}Cl_2N_6O_4$		潜在工艺杂质
杂质 E	5- 氯 -2-［(5*R*)-5- 甲基 -4-［2- 碘 -5- 甲基苯甲酰基 ］-1,4- 二氮杂环庚烷 -1- 基 ］-1,3- 苯并噁唑	$C_{21}H_{21}ClIN_3O_2$		潜在工艺杂质
杂质 F	(4,4'- 二甲基 -［1,1'- 联苯 ］-2,2'- 二基) 双［［(*R*)-4-(5- 氯苯并［*d*］噁唑 -2- 基)-7- 甲基 -1,4- 二氮杂环庚 -1- 基 ］甲酮 ］	$C_{42}H_{42}Cl_2N_6O_4$		工艺杂质

1　仪器与试药

1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司）；e2695 型高效液相色谱仪（美国沃特世公司）；XP205DR 型电子分析天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）。

1 原料药（批号分别为 17060701、17060901、17061301、17113001、17120401、17121401，含量均大于 99.5%）；**1** 对照品、杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F（含量分别为 99.7%、99.9%、99.8%、83.8%、99.5%、99.8%、98.7%、74.0%）。以上化合物均由扬子江药业集团江苏海慈生物药业有限公司提供。乙腈、甲醇为色谱纯，三氟乙酸为分析纯。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱 Waters XBridge C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，3.5 μm）；流动相 A 为 0.1%三氟乙酸溶液，B 为乙腈，按表 2 所示程序进行梯度洗脱；检测波长 254 nm；流速 1.0 mL/min；柱温 50 ℃；进样量 15 μL。

表 2　梯度洗脱程序

Tab.2　Gradient Elution Program

t/min	A/%	B/%
0	70	30
5	70	30
10	55	45
22	55	45
25	62	38
32	62	38
40	35	65
50	25	75
50.1	70	30
60	70	30

2.2　溶液的制备

空白溶剂：甲醇。

1 对照品贮备液：精密称取 **1** 对照品适量，用甲醇溶解并稀释制成 150 μg/mL 的溶液。

杂质贮备液：精密称取杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 对照品适量，各置不同量瓶中，用甲醇溶解并稀释制成 150 μg/mL 的溶液。

混合对照品溶液：精密称取 **1** 对照品约 50 mg，置 100 mL 量瓶中，分别精密加入上述各杂质贮备液 0.5 mL，加入甲醇溶解并稀释制成含 **1** 0.5 mg/mL 和各杂质 0.75 μg/mL 的混合溶液。

杂质定位溶液：精密量取上述各杂质贮备液适量，用甲醇分别稀释制成 0.75 μg/mL 的溶液。

准确度对照品贮备液：精密量取上述各杂质贮备液 5 mL，置同一 100 mL 量瓶中，加甲醇定容，摇匀，即得。

供试品溶液：取 **1** 原料药适量，用甲醇溶解并稀释制成 0.5 mg/mL 的溶液。

对照溶液：精密量取供试品溶液适量，用甲醇稀释成 0.5 μg/mL 的溶液。

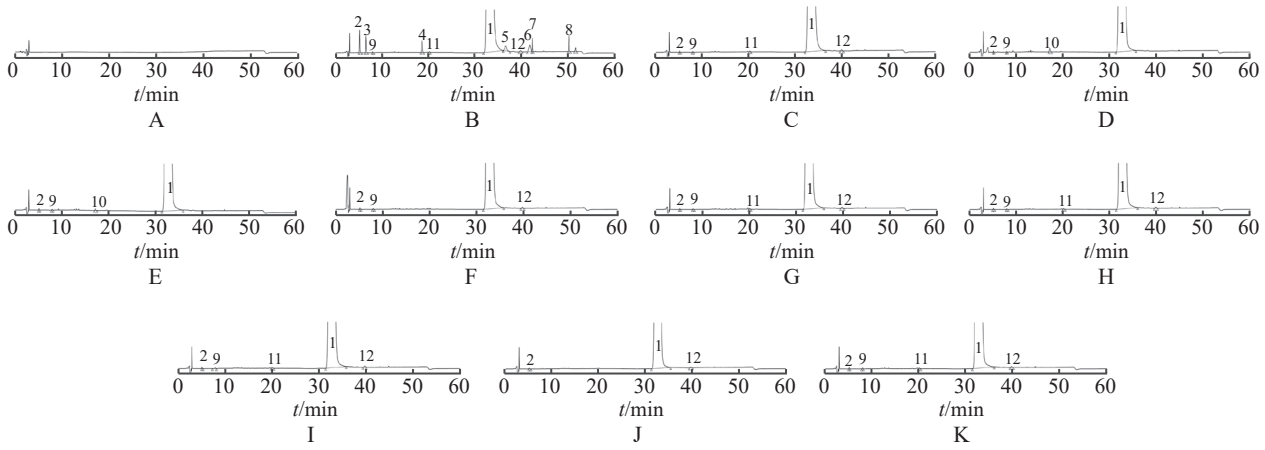
加标供试品溶液：取 **1** 原料药约 25 mg，置 50 mL 量瓶中，精密加入准确度对照品贮备液 5 mL，再用甲醇溶解并定容，摇匀。

加标对照溶液：取加标供试品溶液，用甲醇稀释制成 0.5 μg/mL 的溶液。

2.3　专属性试验

取 **1** 对照品约 25 mg，精密称定，共 9 份，分别置 50 mL 量瓶中。1 份不做处理，配制成甲醇溶液后直接进样分析，作为未破坏溶液。另外 8 份分别进行酸降解（加入 1 mol/L 盐酸 2 mL，置 60 ℃水浴中破坏 8 h）、碱降解（加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL，置 60 ℃水浴中破坏 8 h）、氧化降解（加入 3%过氧化氢溶液 2 mL，置 60 ℃水浴中破坏 8 h）、固体高温（于 60 ℃放置 7 d）、液体高温（用甲醇溶解后于 60 ℃放置 24 h）、固体光照［于（4 500±500）lx 光强环境中放置 7 d］、液体光照［用甲醇溶解后于（4 500±500）lx 光强环境中放置 24 h］、高湿（于相对湿度 92.5%环境中放置 7 d）破坏性试验，破坏时间达到要求之后用甲醇溶解 / 稀释并定容，其中酸 / 碱破坏性试验溶液需要用对应的碱 / 酸溶液中和之后再定容。

精密量取空白溶剂、各杂质定位溶液、混合对照品溶液和各破坏性试验溶液，分别进样分析，记录色谱图。结果（图 1）表明，空白溶剂不影响样品测定，混合对照品溶液中各已知杂质间、主峰与相邻杂质间的分离度均不低于 1.5。**1** 在上述破坏条件



A—空白溶剂；B—混合对照品溶液；C—未破坏溶液；D—酸破坏溶液；E—碱破坏溶液；F—氧化破坏溶液；G—固体光照破坏溶液；H—液体光照破坏溶液；I—固体高温破坏溶液；J—液体高温破坏溶液；K—高湿破坏溶液。

1—**1**；2—杂质 M3；3—杂质 M1；4—杂质 B；5—杂质 C；6—杂质 D；7—杂质 E；8—杂质 F；9 ～ 12—未知杂质。

图 1 破坏性试验 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC Chromatograms of the Stressing Test

下均较稳定，未生成含量超过 0.02％的降解杂质。并且，该 **1** 原料药采用热熔挤出技术[8]制备片剂，在 180 ℃的熔融温度下，产品性质仍较稳定，加速及长期试验条件下未见杂质含量出现明显的变化趋势，也无新降解杂质产生，故不再加剧降解条件进行深入研究。

采用二极管阵列检测器进行峰纯度检查，以未破坏溶液为对照，分别计算各破坏溶液的主峰降解率，通过主峰残存率和主峰纯度的匹配性来考察物料平衡情况。结果如表 3 所示，主峰纯度角均小于纯度阈值，且破坏后物料基本达到平衡，说明方法专属性较好。

表 3 专属性物料平衡结果

Tab.3 Mass Balance Results for Specificity

样品类型	主峰残存率 /%	物料平衡 /%	主峰与相邻峰的最小分离度	纯度角 /(°)	纯度阈值 /(°)
未破坏	—	—	7.65	0.115	0.302
酸破坏	99.1	99.2	18.16	0.122	0.306
碱破坏	100.0	100.0	17.81	0.110	0.305
氧化破坏	100.3	100.3	8.22	0.136	0.307
固体光照破坏	100.3	100.3	8.60	0.106	0.308
液体光照破坏	101.0	101.0	8.42	0.120	0.308
固体高温破坏	99.7	99.7	8.03	0.123	0.310
液体高温破坏	99.4	99.4	10.71	0.119	0.328
高湿破坏	100.1	100.1	8.30	0.129	0.310

2.4 线性试验

精密称取“**2.2**”项下 **1** 对照品贮备液及杂质贮备液各 5 mL，置同一 100 mL 量瓶中，加甲醇定容，摇匀；分别用甲醇稀释成限度浓度 20％～ 200％的系列对照品溶液。照“**2.1**”项下色谱条件分别进样分析，以峰面积（*A*）为纵坐标、质量浓度（*c*）为横坐标，进行线性回归。结果显示，各杂质峰面积与质量浓度呈良好的线性关系。另取上述对照品溶液，系列稀释后进样测定，分别以信噪比（S/N）为 3 与 10 时所对应的质量浓度作为 LOD 与 LOQ。结果如表 4 所示。

2.5 校正因子的测定

根据“**2.4**”项下结果，在各组分线性范围内，计算各杂质相对于 **1** 的校正因子。结果显示，杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 的校正因子分别为 1.3、1.4、1.5、1.2、1.1、2.0、1.1。杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 E 的校正因子不在 0.8 ～ 1.2，故日常检测时应采用加校正因

表 4　各组分线性试验、LOD 及 LOQ 结果

Tab.4　Results of Linearity Test, LODs and LOQs

化合物	线性方程	*r*	线性范围 /(μg·mL^{-1})	LOD/(μg·mL^{-1})	LOQ/(μg·mL^{-1})
1	*A*=58 089.179 5*c*+1 229.561 2	0.999 9	0.151 ～ 1.507	0.038	0.151
杂质 SM3	*A*=41 883.607 8*c*+266.556 3	1.000 0	0.038 ～ 1.553	0.009	0.038
杂质 M1	*A*=40 826.496 6*c*+143.027 9	1.000 0	0.039 ～ 1.535	0.010	0.039
杂质 B	*A*=38 226.864 1*c*+288.868 4	1.000 0	0.064 ～ 1.310	0.016	0.064
杂质 C	*A*=47 724.556 0*c* – 140.999 3	1.000 0	0.149 ～ 1.491	0.037	0.149
杂质 D	*A*=52 023.749 1*c*+100.668 3	0.999 9	0.153 ～ 1.527	0.039	0.153
杂质 E	*A*=28 482.071 9*c*+ 175.094 7	1.000 0	0.076 ～ 1.473	0.019	0.076
杂质 F	*A*=51 791.376 7*c*+ 261.944 0	1.000 0	0.029 ～ 1.093	0.007	0.029

子的主成分自身对照法进行样品检测。

2.6　精密度试验

按“**2.2**”项下方法配制供试品溶液及对照溶液，平行制备 6 份，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，各溶液中杂质 SM3 的检出量均为 0.01%，杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 均未检出，其他未知单杂检出量均为 0.02%，总杂为 0.08%。杂质检出量均小于报告限，故采用加标供试品溶液的检测结果进行评价。

取“**2.2**”项下加标供试品溶液和加标对照溶液，各 6 份，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 检出量的极差均不超过 0.02%。更换分析人员、色谱柱（批号 01913731717624、01863709414502）、HPLC 仪品牌（安捷伦 1260 型及沃特世 e2695 型）、实验日期（2018-02-26、2018-03-20），同法配制中间精密度溶液 6 份，按“**2.1**”项下色谱条件分别进样测定。结果显示，杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 检出量的极差均不超过 0.02%。

2.7　准确度试验

分别精密量取“**2.2**”项下准确度对照品贮备液 1、5 和 7.5 mL，各 3 份，置 50 mL 量瓶中，分别加入 **1** 原料药（批号 17113001）约 25 mg，加甲醇溶解并稀释成含 **1** 0.5 mg/mL，各杂质质量浓度分别为限度浓度 20%、100%、150%的溶液，分别按“**2.1**”项下色谱条件进样检测，记录色谱图。计算得杂质 SM3、杂质 M1、杂质 B、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 F 的平均回收率（*n*=9）分别为 99.4%、100.8%、100.4%、97.5%、99.9%、100.8%和 100.5%，RSD 分别为 0.7%、2.2%、0.6%、1.9%、2.1%、1.0%和 1.6%。

2.8　耐用性试验

分别轻微改变色谱条件柱温、流速、三氟乙酸浓度、流动相初始比例、检测波长（分别为：±5 ℃、±0.05 mL/min、±0.01%、±5%、±2 nm），检测加标供试品溶液。结果显示，加标供试品溶液中杂质含量变化的绝对值不大于 0.02%，加标供试品溶液中 **1** 峰与相邻杂质峰之间均能达到基线分离，各杂质峰间的分离度均符合要求，耐用性良好。

2.9　样品测定

取不同批次 **1** 原料药进行加速试验［(40±2) ℃，(75±5) %，6 个月］和长期试验［(30±2) ℃，相对湿度 (65±5)%，24 个月］，定时取样，按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液后进样分析。检测结果（表 5）显示，在各采样时间点的稳定性试验样品中，各杂质的含量与 0 d 相比无明显变化，且质量标准中的其他检测项目也无显著变化，说明 **1** 原料药室温贮存时的稳定性良好。

3　讨论

3.1　溶液稳定性考察

采取常温进样盘考察时，**1** 及各杂质对照品溶液均较稳定，因此无需控温。

3.2　检测波长的选择

通过对 **1** 及各杂质的紫外全扫描分析可知，**1** 及各杂质（杂质 M1 除外）在 213 ～ 220 nm 有最大紫外吸收，在 250 ～ 255 nm 有次强紫外吸收，288 ～ 291 nm 有第三特征吸收，杂质 M1 则在 200 ～ 300 nm

表 5 **1** 原料药杂质测定结果[1)]/%

Tab.5 Determination Results of the Impurities in **1** Bulk Drug/%

成分	批号												限度
	17060701	17060901	17061301	17113001			17120401			17121401			
	0 d	0 d	0 d	0 d	加速 6 个月	长期 24 个月	0 d	加速 6 个月	长期 24 个月	0 d	加速 6 个月	长期 24 个月	
杂质 SM3	0.03	—	0.02	0.01	—	0.01	—	—	—	0.02	0.01	0.02	0.15
杂质 M1	0.02	0.03	—	—	—	—	0.01	0.01	0.01	—	—	—	0.15
杂质 B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
杂质 C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
杂质 D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
杂质 E	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
杂质 F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
其他未知单杂	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.10
总杂	0.10	0.09	0.11	0.08	0.07	0.08	0.03	0.03	0.03	0.08	0.08	0.07	0.50

备注：[1)]“—”代表未检出；17060701、17060901 和 17061301 批次样品未进行稳定性试验。

处有紫外吸收。综合考虑末端吸收干扰及波长吸收情况，选择 254 nm 为检测波长。

3.3 色谱柱的选择

杂质 SM3、杂质 M1 与其他杂质的极性差异较大，杂质 D 及杂质 E 的出峰时间较为接近。若采用常规的 C_{18} 柱，如 Waters SunFire C_{18} 柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）和 ZORBAX C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）等，杂质 SM3 及 M1 的出峰时间较靠前，杂质 D 及杂质 E 分离度较差。经试验，最终选用应用范围广、pH 耐受性较强的 Waters XBridge C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，3.5 μm），能有效将各个杂质分离开。

3.4 流动相的选择

为在短时间内高效洗脱与分离 **1** 及其 7 个极性跨度较大的杂质，本研究采用梯度洗脱。初始阶段采用高比例酸性水相（含 0.1%三氟乙酸）与低比例乙腈的等度洗脱，以有效分离强极性杂质组分；随后通过动态调节乙腈比例，实现对弱极性杂质的有效分离。经系统优化，最终确定以 0.1%三氟乙酸溶液（流动相 A）和乙腈（流动相 B）作为二元流动相体系，通过梯度洗脱程序实现本品中多个杂质的基线分离。

综上所述，该方法具有良好的灵敏度、线性关系、回收率及重复性，可满足 **1** 原料药质量控制的要求，为原料药生产工艺监控和稳定性研究提供了可靠的分析手段。

参考文献：

[1] COLEMAN P J, GOTTER A L, HERRING W J, *et al*. The discovery of suvorexant, the first orexin receptor drug for insomnia [J]. *Annu Rev Pharmacool Toxicol*, 2017, **57**: 509-533.

[2] 郑俊玮, 孟适秋, 刘王玥, 等. 镇静催眠药的合理使用与滥用[J]. 四川大学学报(医学版), 2023, **54**(2): 231-239.

[3] TACHIBANA M, INADA T, ICHIDA M, *et al*. Significant decrease in delirium referrals after changing hypnotic from benzodiazepine to suvorexant [J]. *Psychogeriatrics*, 2021, **21**: 324-332.

[4] 董凛杰, 蔡景辉, 刘国柱. 一种用HPLC法测定苏沃雷生有关物质的方法: 中国, 107179356B [P]. 2021-07-16.

[5] 李 强, 张 静, 丁 丽. 苏沃雷生中间体的制备方法及应用. 中国, 112574181A [P]. 2021-03-30.

[6] 李春霓, 邱 康, 戢良超, 等. 苏沃雷生关键手性高哌嗪中间体的合成及工艺优化[J]. 中国药物化学杂志, 2024, **34**(2): 93-98.

[7] 韩冰冰, 侯 建, 邱 迅, 等. 苏沃雷生的合成研究进展[J]. 合成化学, 2024, **32**(7): 637-684.

[8] 赵 朋, 李聪慧, 帅思祎, 等. 流变学指导热熔挤出技术制备苏沃雷生-共聚维酮固体分散体[J]. 药学学报, 2024, **59**(8): 2396-2403.