

## HPLC 法测定富马酸喹硫平缓释片含量及有关物质

沈惠芬, 郑艾妮, 余诺君, 李 宁

广东药科大学 药学院, 广东 广州 510006

**摘要:** 目的 建立测定富马酸喹硫平缓释片含量及4种有关物质的HPLC方法。方法 采用ZorBAX Eclipse XDB-C8柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以甲醇-乙腈-0.02 mol/L 磷酸氢二铵溶液(54:7:39)为流动相, 体积流量为1.0 mL/min; 柱温为30℃; 检测波长为230 nm。结果 在该色谱条件下, 有关物质与主成分分离度良好, *R*均大于1.5; 富马酸喹硫平在80~320 μg/mL线性良好, *r*=0.999 7, 检测限为0.025 μg/mL; 平均回收率为99.9% (RSD=1.7%, *n*=9)。结论 该方法简便、灵敏、重复性好, 可用于同时测定富马酸喹硫平缓释片的含量及4种有关物质。

**关键词:** 富马酸喹硫平缓释片; HPLC; 含量测定; 有关物质

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)04-0594-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.04.017

## Determination of the content and related substances of fumarate quetiapine extended-release tablets by HPLC

SHEN Huifen, ZHENG Aini, YU Nuojun, LI Ning

School of pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

**Abstract: Objective** To establish a HPLC method for determination of the content and four related substances of quetiapine fumarate extended-release tablets. **Method** The separation was performed on a ZorBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); The mobile phase was methanol-acetonitrile-0.02 mol/L diammonium phosphate solution (54:7:39) at a flow rate of 1.0 mL/min; The column temperature was 30℃; The detection wavelength was 230 nm. **Results** Related substances were completely separated from the major constituents, with the resolutions were more than 1.5. While a good linearity was found over the range of 80—320 μg/mL, *r* = 0.999 7, with a detection limit of 0.025 μg/mL and it's average recovery was 99.9% (RSD = 1.7%, *n* = 9). **Conclusion** A simple, sensitive and reproducible determination method of the content and four related substances of quetiapine extended-release tablets was established.

**Key words:** quetiapine fumarate extended-release tablets; HPLC; determination of content; related substances

富马酸喹硫平化学名为 11-[4-[2-(2-羟基乙氧基)乙基]-1-哌嗪基]二苯并[b, f]硫氮杂卓半富马酸盐, 结构式如图 1。是新型二苯并硫氮杂卓类的非典型抗精神病药, 喹硫平具有多受体作用, 主要作用于 5-HT<sub>2</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub> 及 D<sub>4</sub> 受体, 具有快速解离特点<sup>[1-2]</sup>, 对精神分裂症的阳性和阴性症状都有效果。可用于治疗精神分裂症、双相情感障碍以及抑郁症, 具有神经保护作用、改善患者的认知障碍、锥体外系不良反应低的特点<sup>[3-5]</sup>。其缓释片于 2007 年在美国上市, 即英国阿斯利康公司研发的富马酸喹硫平缓释片(商品名为 Seroquel XR, 思瑞康), 可增加

病人用药依从性<sup>[6]</sup>。

目前现行版中国药典仅对富马酸喹硫平有关物质的总量进行控制, 未对单个具体杂质进行控制<sup>[7]</sup>。参考相关文献报道的富马酸喹硫平片含量和有关物质的质量控制方法<sup>[8-12]</sup>, 本文以甲醇-乙腈-0.02 mol/L 磷酸氢二铵溶液为流动相, 选择适当比例建立了一种能同时准确测定富马酸喹硫平缓释片含量和有关物质的 HPLC 方法, 有关物质为美国药典要求检测的 3 个杂质: 有关物质 B、有关物质 G、去乙醇, 本文还检测了 N-氧化物(有关物质结构式见图 1)。

收稿日期: 2017-10-10

第一作者: 沈惠芬(1992—), 女, 硕士研究生, 主要从事药物制剂新技术的研究。Tel: 13430284377 E-mail: 13430284377@163.com

\*通信作者: 李 宁(1959—), 女, 教授, 主要从事天然药物及化学药物质量标准研究。Tel: (020)39352136 E-mail: 13724117338@163.com

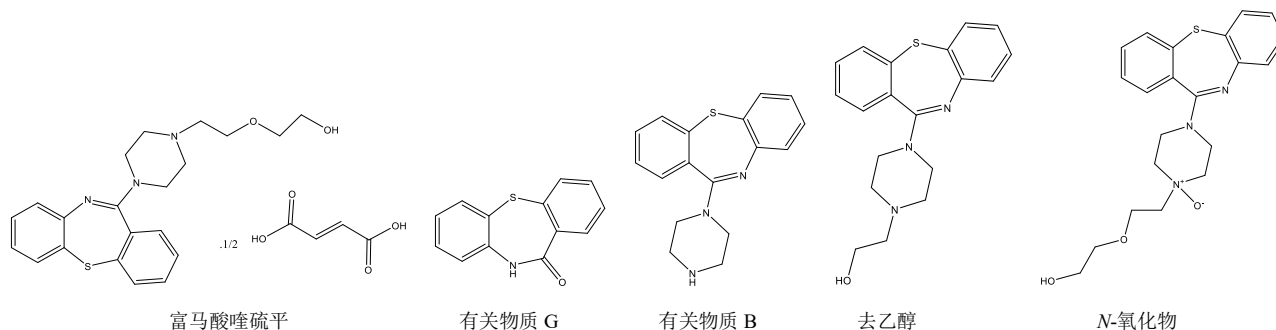


图1 富马酸喹硫平及其有关物质结构式

Fig. 1 Chemical structure of quetiapine fumarate and related substances

## 1 仪器与试剂

Shimadzu 高效液相色谱仪 (包括 LC-15C 泵, SPD-M20A 紫外检测器, CTO-10A Svp 柱温箱), Shimadzu HPLC 色谱系统 (LC solution 液相色谱数据工作站), ZorBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 电子天平 (FA3204B, 上海精科天美科学仪器有限公司; JJ2000B, 常熟市双杰测试仪器厂), 台式循环水式多用真空泵 SHB-III G (郑州长城科工贸有限公司), 溶剂过滤瓶 FB-10T (天津奥特赛恩斯仪器有限公司), 台式离心机 TD4 (湖南凯达科学仪器有限公司)。

甲醇、乙腈 (色谱级, 美国 J.T.Baker), 磷酸氢二铵盐酸、过氧化氢 (分析纯, 广州化学试剂厂), 乙腈 (分析纯, 广州化学试剂厂), 蒸馏水 (广州屈臣氏集团), 富马酸喹硫平缓释片 (广东药科大学药物制剂教研室, 规格 200 mg, 批号 20162003、20161004), 富马酸喹硫平缓释片 (阿斯利康公司, 规格 200 mg, 批号 60014954), 富马酸喹硫平原料药 (印度熙德隆制药公司, 批号 QP0110114), 富马酸喹硫平对照品 (美国药典标准, 规格 100 mg, 批号 F006X0), 富马酸喹硫平系统适用性对照品 (美国药典标准, 10 mg, 批号 F00950)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液配制

**2.1.1 对照品储备液制备** 精密称定富马酸喹硫平对照品约 20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加入 50% 乙腈溶解并稀释至刻度, 配制成质量浓度 2 mg/mL 的富马酸喹硫平对照品储备液。

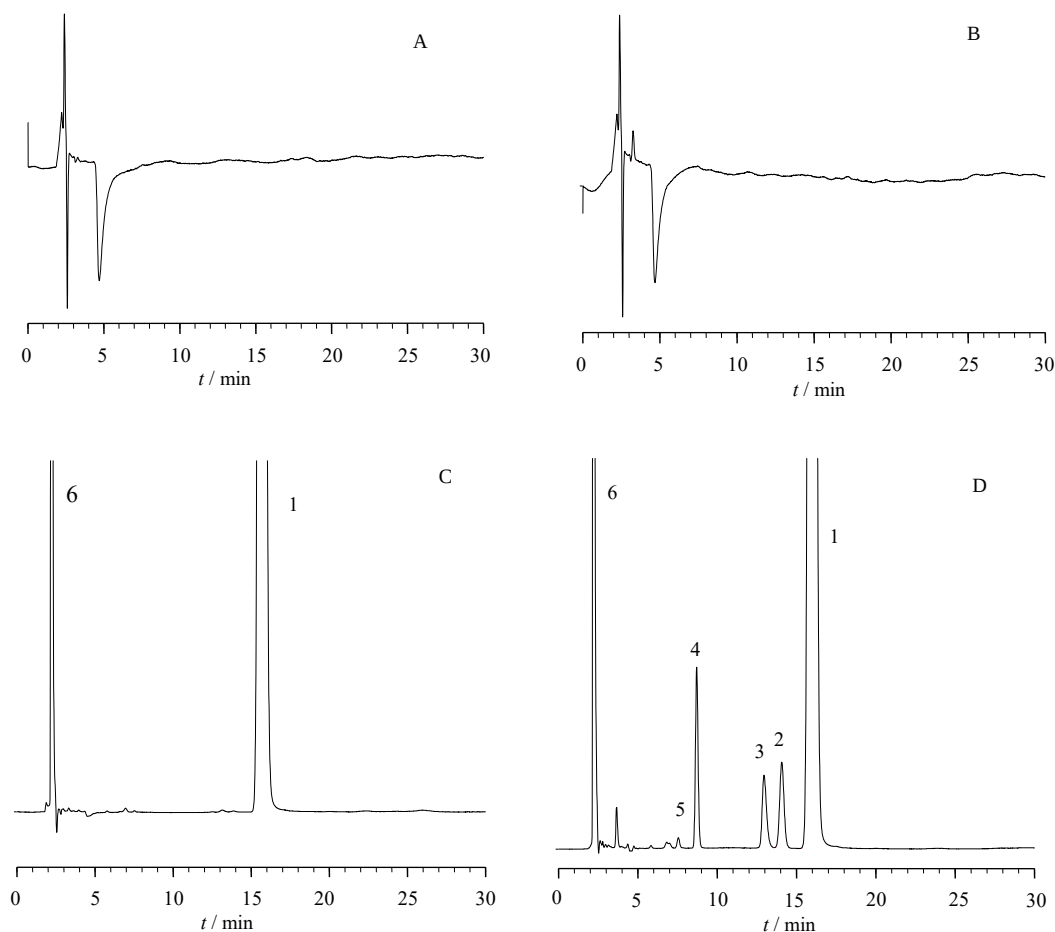
**2.1.2 对照品溶液制备** 精密量取上述富马酸喹硫平对照品储备液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加入适量流动相溶解并稀释至刻度, 制成质量浓度 0.2 mg/mL 的富马酸喹硫平对照品溶液。

**2.1.3 系统适用性溶液制备** 取富马酸喹硫平系统适用性对照品约 5 mg, 精密称定, 置 5 mL 量瓶中, 加入 50% 乙腈溶解稀释至刻度, 得 1 mg/mL 的系统适用性对照品储备液。再精密量取上述系统适用性对照品储备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用适量流动相溶解并稀释至刻度, 制成质量浓度 0.2 mg/mL 的富马酸喹硫平系统适用性溶液。

**2.1.4 供试品溶液制备** 取本品 2 片 (规格 200 mg, 批号 20162003), 研磨, 取相当于喹硫平 100 mg 的量, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加乙腈 20 mL, 浸泡 15 min 后, 边超声边加入 20 mL 水, 再用 50% 乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 得质量浓度 2 mg/mL 的富马酸喹硫平供试品储备液。精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 制成富马酸喹硫平质量浓度 0.2 mg/mL 的供试品溶液。

### 2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 ZorBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.02 mol/L 磷酸氢二铵溶液 (54:7:39), 检测波长 230 nm, 柱温 30℃, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 30 μL。精密吸取空白溶剂、空白辅料溶液、“2.1”项下富马酸喹硫平对照品溶液和系统适用性溶液各 30 μL, 注入液相色谱仪, 系统适用性溶液重复进样 6 次, 按上述色谱条件测定并记录色谱图, 见图 2。6 次测定结果, 富马酸喹硫平与各有关物质峰的分离度均大于 1.5, 主峰富马酸喹硫平、去乙醇、有关物质 B、有关物质 G 峰面积的 RSD 值分别为 0.86%、1.15%、1.57%、0.77%, 均小于 2.0%; 保留时间的 RSD 值分别为 0.03%、0.03%、0.02%、0.04%, 均小于 1.0%; 拖尾因子小于 2.0; 各理论塔板数按喹硫平峰计算不低于 6 000, 符合《中国药典》2015 版二部富马酸喹硫平质量标准要求, 说明本方法系统适用性良好。



1-喹硫平; 2- 去乙醇; 3-有关物质 B; 4-有关物质 G; 5- N-氧化物; 6-富马酸

1-quetiapine; 2-quetiapine desethoxy; 3-quetiapine related compound B; 4-quetiapine related compound G; 5- N-oxide; 6-fumaric acid

图2 空白溶剂(A)、空白辅料溶液(B)、对照品溶液(C)、系统适用性溶液(D)的HPLC色谱图

Fig.2 HPLC chromatograms of black solvent (A), black supplementary material (B), reference solutions (C), system suitability solution (D)

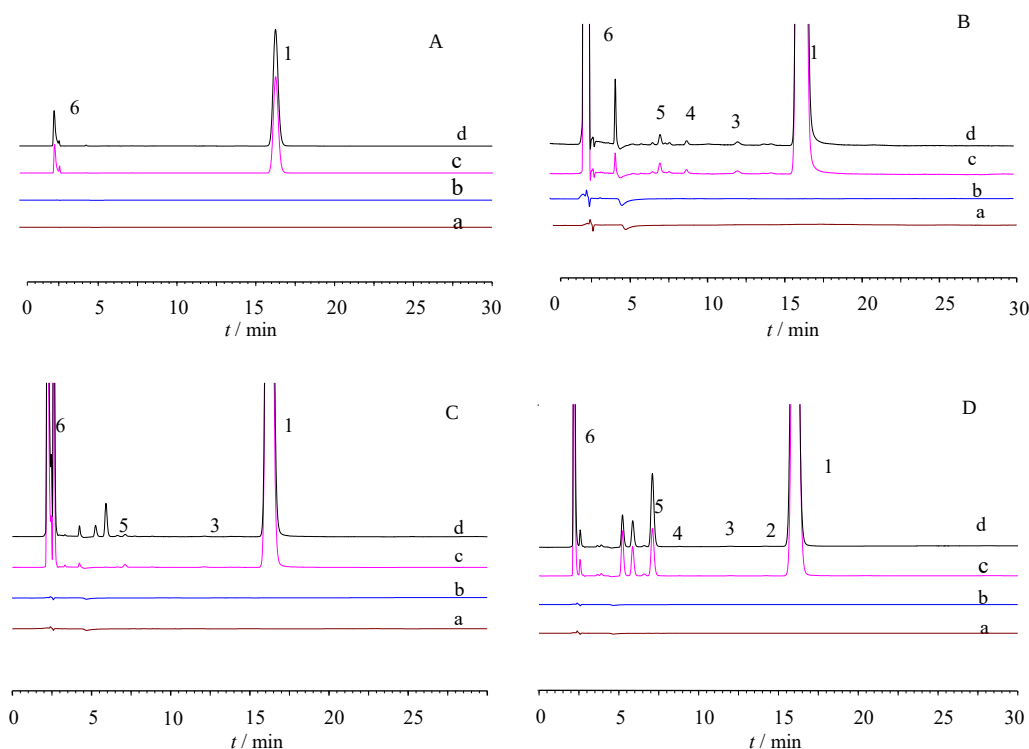
## 2.3 方法学验证

**2.3.1 专属性** 取本品10片(规格200 mg, 批号20162003), 研细, 取约300 mg, 精密称定, 置50 mL量瓶中, 加50%乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为样品储备液。分别精密吸取上述样品储备液1 mL 4份, 置10 mL量瓶中, 1份不做处理, 直接加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为未破坏溶液; 其余3份分别精密加入1 mol/L 盐酸溶液、1 mol/L 氢氧化钠溶液、0.1%双氧水溶液各1 mL, 避光静置24 h, 酸、碱破坏溶液分别调pH至中性, 3份加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为酸、碱、氧化破坏溶液。分别进样30  $\mu$ L, 记录色谱图, 见图3。

结果本品在酸、碱、氧化条件下均有降解杂质生成, 其中氧化条件下的降解产物较明显, 所选色

谱条件均能将主峰、已知杂质峰与相邻杂质峰实现较好的分离( $R > 1.5$ ), 且溶剂和辅料不干扰有关物质的检测, 说明本法专属性好。

**2.3.2 线性与线性范围** 分别精密量取“2.1”项下2 mg/mL 富马酸喹硫平对照品储备液0.8、1.2、1.6、2、2.4、2.8、3.2 mL, 分别置20 mL量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为80、120、160、200、240、280、320  $\mu$ g/mL的系列标准溶液, 按“2.2”项下色谱条件测定, 分别进样30  $\mu$ L。记录色谱图, 量取峰面积, 以峰面积为纵坐标, 标准溶液浓度为横坐标, 进行线性回归处理。计算得线性方程为 $y = 65\,605x + 135\,412$ ,  $r = 0.9997$  ( $n = 6$ )。说明富马酸喹硫平在80~320  $\mu$ g/mL与峰面积线性关系良好。



a-溶剂; b-空白辅料溶液; c-原料药溶液; d-供试品溶液; 1-喹硫平; 2-去乙醇; 3- 有关物质 B; 4-有关物质 G; 5-N-氧化物; 6-富马酸  
a-black solvent; b-black supplementary material; c-active pharmaceutical ingredients; d-test samples; 1- quetiapine; 2- quetiapine desethoxy; 3-  
quetiapine related compound B; 4- quetiapine related compound G; 5- N- oxide; 6- fumaric acid

图3 未破坏(A)、酸破坏(B)、碱破坏(C)、氧化破坏(D)的降解产物色谱图

Fig.3 Degradation products chromatograms of not degraded (A), degraded by acid (B), degraded by base (C), degraded by oxidation (D)

**2.3.3 精密度试验** 按“2.1”溶液配制项,取平行配制的6份供试品溶液和对照品溶液各30  $\mu$ L,注入液相色谱仪,按“2.2”项下色谱条件测定并记录色谱图。结果6份供试品溶液含量标示量分别为102.4%、102.5%、100.4%、100.2%、101.5%、101.8%,RSD为1.2%,说明本方法精密度良好。

**2.3.4 溶液稳定性试验** 取“2.1”项下的富马酸喹硫平供试品溶液,置于室温中,在日内0、2、4、6、8、16、24 h进样。方法同含量测定项,结果室温条件下,富马酸喹硫平的峰面积随着时间增加无显著改变,RSD为0.29%,各时间点的峰面积与0时结果的偏差值均不大于2.0%,符合标准。说明供试品溶液在室温条件下放置24 h,稳定性良好。

**2.3.5 检测限与定量限** 取“3.2”项下80  $\mu$ g/mL富马酸喹硫平对照品溶液,逐步稀释,分别注入液相色谱仪进行测定,色谱图中主峰峰高约为基线噪声3倍( $S/N=3$ )时记为检测限,主峰峰高约为基线噪声10倍( $S/N=10$ )时记为定量限。结果得富马酸喹硫平检

测限为0.025  $\mu$ g/mL,定量限为0.1  $\mu$ g/mL。

**2.3.6 回收率试验** 精密量取“2.1”项下质量浓度为2 mg/mL富马酸喹硫平对照品储备液0.3、0.5、0.7 mL各3份,置10 mL量瓶中,分别精密加入“2.1”项下质量浓度2 mg/mL的富马酸喹硫平供试品储备液0.5 mL,加50%乙醇稀释至刻度,摇匀,制成低中高3种浓度浓度分别为160、200、240  $\mu$ g/mL的供试品溶液。照含量测定方法操作,每个浓度连续进样3次,计算回收率。结果高中低浓度下的回收率均在98.0%~102.0%,平均回收率为99.9%,RSD为1.7%,说明本方法准确度高,回收率好。

## 2.4 样品含量测定

按“2.1”项下配制含量测定的供试品溶液及对照品溶液,精密量取对照品及供试品溶液30  $\mu$ L注入液相色谱仪,记录色谱图。按外标法以峰面积计算富马酸喹硫平的含量。取本品200 mg规格2批(批号:20162003、20162004),按上述方法测定,测得2批样品平均含量分别为98.8%、98.4%,均在



90.0%~110.0%，样品的含量符合规定。

## 2.5 样品有关物质检测

按照“2.2”项下色谱条件，对200 mg规格2批样品（批号20162003、20162004）和对照药品（思瑞康，批号60014954）有关物质进行检查，按外标

法以峰面积计算有关物质的含量，结果见表1，结果表明200 mg 2批样品中N-氧化物、有关物质G、去乙醇均在0.2%内，最大杂质均在0.2%内，总杂质均在0.4%内，200 mg规格2批样品和对照药品有关物质检查均合格。

表1 有关物质检测结果  
Table 1 The result of the related substances

| 批号       | N-氧化物/% | 有关物质G/% | 去乙醇/% | 最大杂质/% | 总杂质/% |
|----------|---------|---------|-------|--------|-------|
| 20162003 | 0.03    | 0.01    | 0.01  | 0.03   | 0.10  |
| 20162004 | 0.05    | 0.01    | —     | 0.05   | 0.09  |
| 对照药品     | 0.02    | —       | 0.02  | 0.02   | 0.05  |

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

分别配制适宜浓度的富马酸喹硫平对照品溶液、系统适用性对照品溶液，在200~400 nm范围内进行波长扫描，富马酸喹硫平在289 nm处有最大吸收，系统适用性对照品光谱图显示，富马酸喹硫平的有关物质在230 nm处附近有较强的吸收，因此选择230 nm作为富马酸喹硫平缓释片有关物质项下的检测波长。

### 3.2 流动相的选择

为对富马酸喹硫平有关物质B、有关物质G、去乙醇、N-氧化物进行控制。对《中国药典》2015年版的流动相进行调整，包括流动相比比例，将流动相中加入乙腈，有关物质与主峰均达不到理想的分离效果；参照美国药典USP38-NF33 S2，将流动相中三乙胺更换为0.02 mol/L磷酸氢二铵缓冲溶液（磷酸调节pH6.5），色谱峰拖尾现象和分离效果均得到改善，最后采用甲醇-乙腈-0.02 mol/L磷酸氢二铵溶液（54:7:39）为流动相时分离度和柱效均比较理想。

本文建立了富马酸喹硫平缓释片含量及有关物质测定的HPLC法，并测定了两批样品和一批对照药品。方法简便准确，可满足本品质量研究的要求，为其药品研发与仿制的质量控制提供了可靠的依据。

### 参考文献

[1] Shah B, Khunt D, Misra M, et al. Non-invasive intranasal delivery of quetiapine fumarate loaded microemulsion for brain targeting: Formulation, physicochemical and pharmacokinetic consideration [J]. Eur J Pharm Sci, 2016,

91(25): 196-207.

- [2] 勾蕾, 陶学良, 刘丽蓉. 喹硫平治疗抑郁症的增效作用 [J]. 临床精神医学, 2010, 20(2): 127-128.
- [3] 冯志颖, 王中刚. 喹硫平在国内的临床应用情况 [J]. 精神医学杂志, 2010, 23(6): 475-477.
- [4] 梁键谋, 傅聪, 陈悦. 液相色谱-质谱联用测定富马酸喹硫平中N, N-二甲基苯胺 [J]. 医药导报, 2017, 36(3): 317-320.
- [5] Figueroa C, Brecher M, Hamer-Maansson J E, et al. Pharmacokinetic profiles of extended release quetiapine fumarate compared with quetiapine immediate release [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2008, 33(2): 199-204.
- [6] FDA 批准富马酸喹硫平控释片长期治疗精神分裂症 [J]. 齐鲁事药事, 2008, 27(1): 52.
- [7] 中国药典 [S]. 二部. 2015.
- [8] 刘艳妮, 蒋海松, 高丽, 等. HPLC法测定富马酸喹硫平缓释片的含量 [J]. 黑龙江医药, 2010, 25(1): 2-4.
- [9] 付崇铭, 王汝展. 反相高效液相色谱法测定富马酸喹硫平片的含量 [J]. 中国新药杂志, 2002, 2(11): 144-146.
- [10] 刘艳妮, 蒋海松, 高丽, 等. HPLC法测定富马酸喹硫平缓释片中喹硫平氮氧化物及其它有关物质 [J]. 黑龙江医药, 2012, 25(3): 355-358.
- [11] Sharma D, Srinivas K S, Gupta P, et al. Simultaneous estimation of risperidone, olanzapine and quetiapine and their degradation products by HPLC [J]. Acta Pharma Sci, 2010, 52(3): 345-352.
- [12] 谢芳, 郭庆东, 王增明, 等. 高效液相色谱法测定喹硫平缓释片含量及有关物质 [J]. 国际药学研究杂志, 2012, 39(4): 341-344.