

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

- 中国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊

- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 中国药学会系列期刊

本期导读：

铂类抗肿瘤药物纳米递送系统研究进展

孙飘，丁杨，周建平

罗米地辛潜在杂质的分离与鉴定

熊磊，闵涛玲，陈昌发，胡海峰



微信号 : cjph-cjph



主 办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会

12

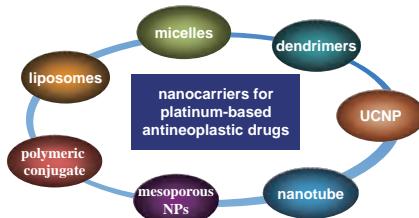
2019年12月

第50卷

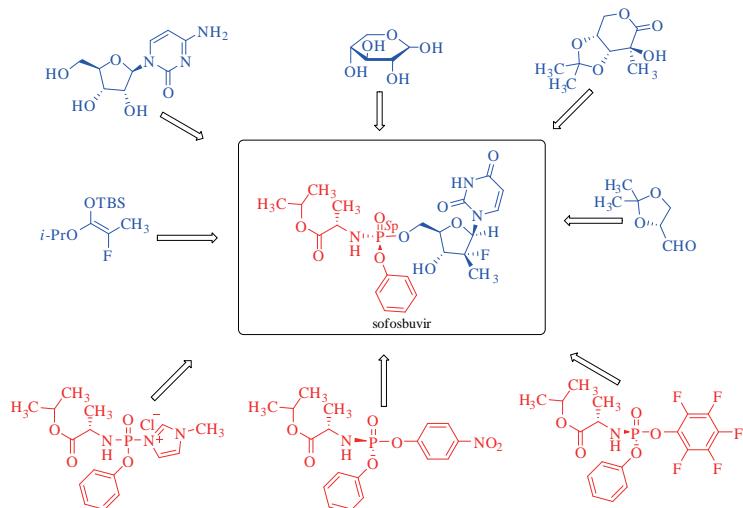
Vol.50 No.12

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

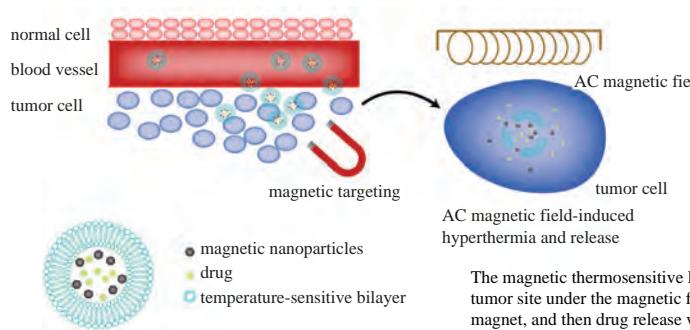
- 1383 铂类抗肿瘤药物纳米递送系统研究进展········孙 飘, 丁 杨, 周建平*
 Recent Progress in Drug Delivery Systems for Platinum Antineoplastic Agents········SUN P, DING Y, ZHOU J P*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.001



- 1393 索非布韦合成研究进展········韩美振, 秦晋晶, 谭志勇, 李振华*
 Progress in the Synthesis of Sofosbuvir········HAN M Z, QIN J J, TAN Z Y, LI Z H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.002

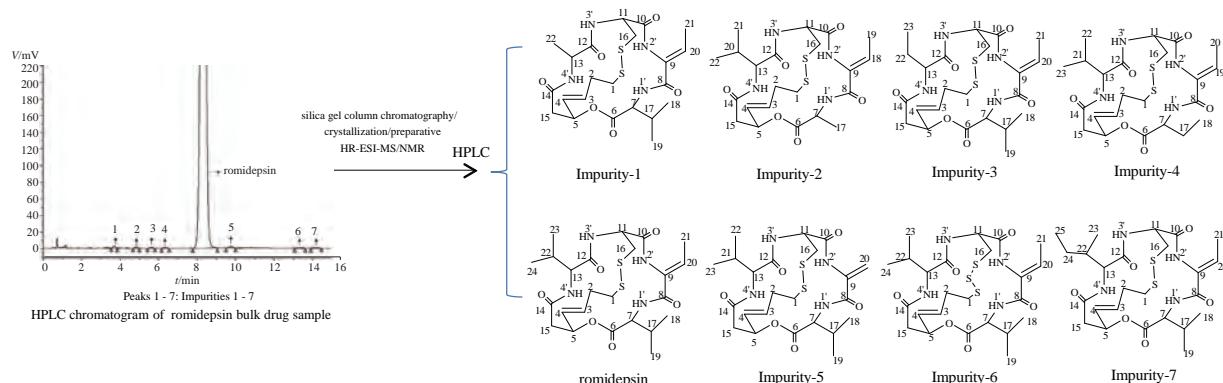


- 1405 磁靶向热敏脂质体在抗肿瘤靶向治疗中的新进展········马秋燕, 林华庆*, 张 静, 蒋 鸿, 鲁泊宏
 New Research Progress of Magnetic Thermosensitive Liposomes in Tumor Targeting Therapy········MA Q Y, LIN H Q*, ZHANG J, JIANG H, LU B H
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.003

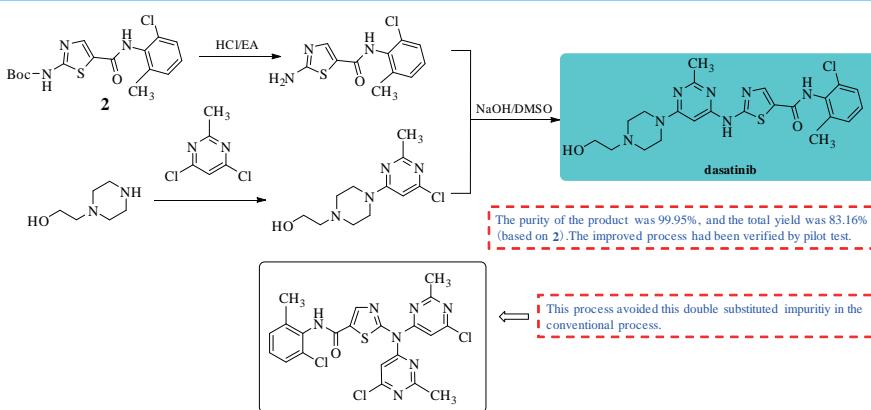


The magnetic thermosensitive liposomes can be targeted to the tumor site under the magnetic force generated by the horseshoe magnet, and then drug release will be triggered by hyperthermia upon local application of an AC magnetic field on the tumor tissue.

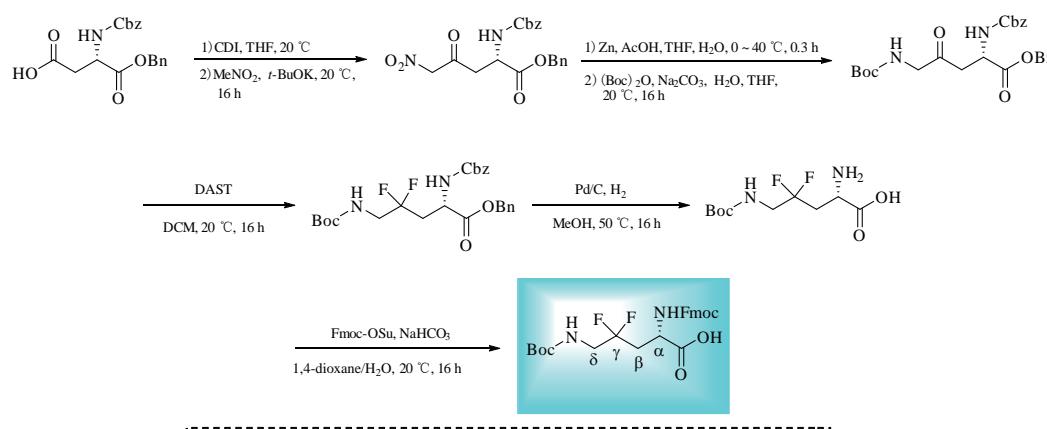
- 1413 罗米地辛潜在杂质的分离与鉴定.....熊磊, 闵涛玲, 陈昌发, 胡海峰*
 Isolation and Identification of Potential Impurities of Romidepsin.....XIONG L, MIN T L, CHEN C F, HU H F*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.004



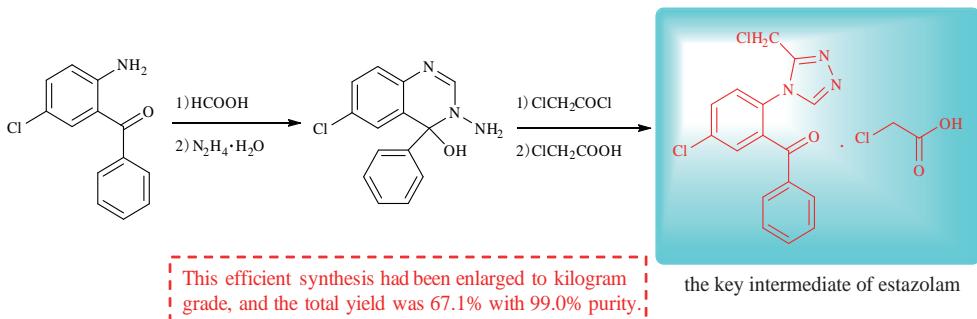
- 1423 达沙替尼的合成工艺优化.....王洪刚, 费凡, 张乃华, 潘高峰, 张贵民*
 Improved Synthetic Process of Dasatinib.....WANG H G, FEI F, ZHANG N H, PAN G F, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.005



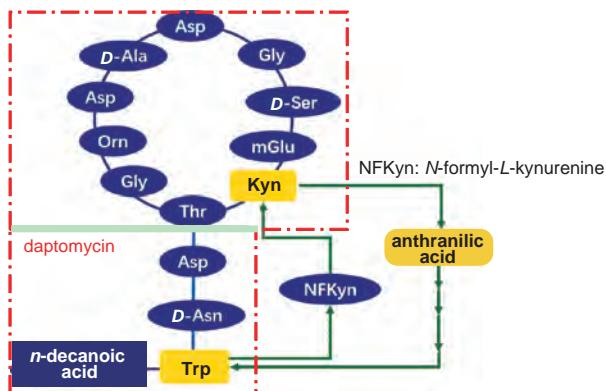
- 1427 (S)-2-[(芴甲氧羰基)氨基]-5-[(叔丁氧羰基)氨基]-4,4-二氟戊酸的合成.....王迪, 刘海侠, 傅磊*
 Synthesis of (S)-2-[(Fluorenylmethoxycarbonyl) amino]-5-[(tert-butoxycarbonyl) amino]-4,4-difluoropentanoic acid.....WANG D, LIU H X, FU L*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.006



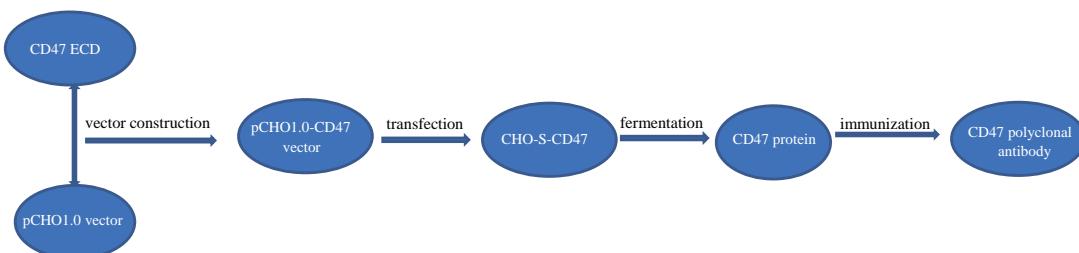
1431 5-氯-2-(3-氯甲基-1,2,4-三唑-4-基)二苯酮氯乙酸盐的合成.....范 钢, 仲 慧, 高浩凌, 卢时湧, 钱秀萍*
 Synthesis of 5-Chloro-2-(3-chloromethyl-1,2,4-triazol-4-yl)dibenzophenone Chloroacetate.....FAN G, ZHONG H, GAO H L, LU S Y, QIAN X P*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.007



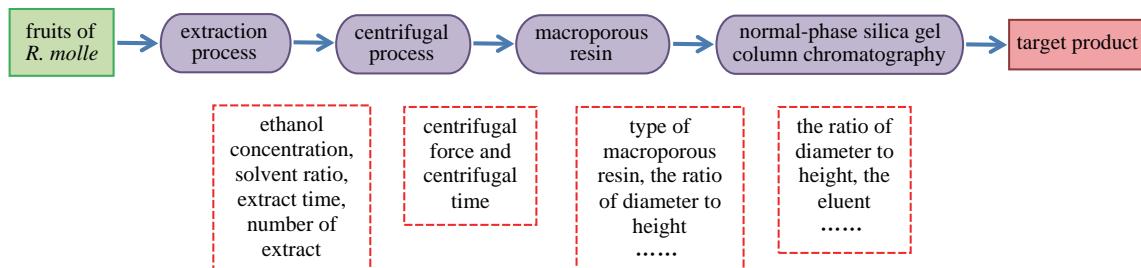
1434 邻氨基苯甲酸对达托霉素发酵的影响.....徐 鲁, 卢雪欢, 张建斌, 李继安, 林惠敏*
 Effect of Anthranilic Acid on Fermentation of Daptomycin.....XU L, LU X H, ZHANG J B, LI J A, LIN H M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.008



1439 CD47 胞外区蛋白的真核表达与多克隆抗体的制备.....朱中松, 赵丽丽, 王玲玲, 张贵民, 刘 忠*
 Eukaryotic Expression of CD47 Extracellular Domain Protein and Preparation of Polyclonal Antibody.....ZHU Z S, ZHAO L L, WANG L L, ZHANG G M, LIU Z*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.009

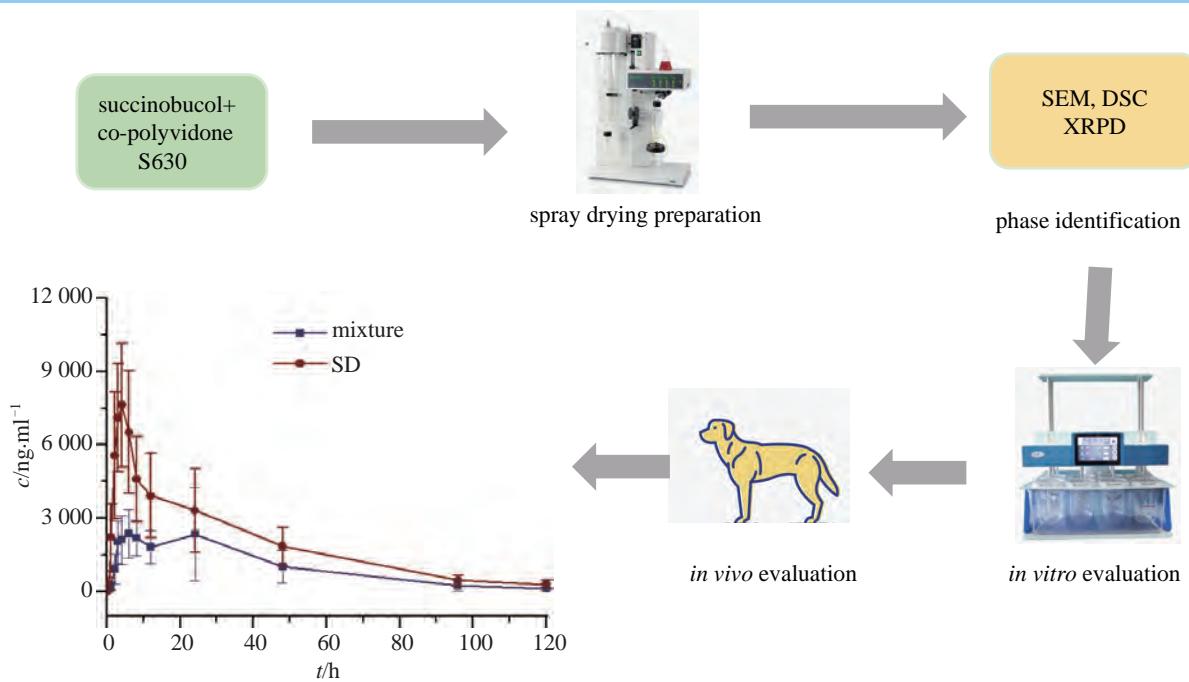


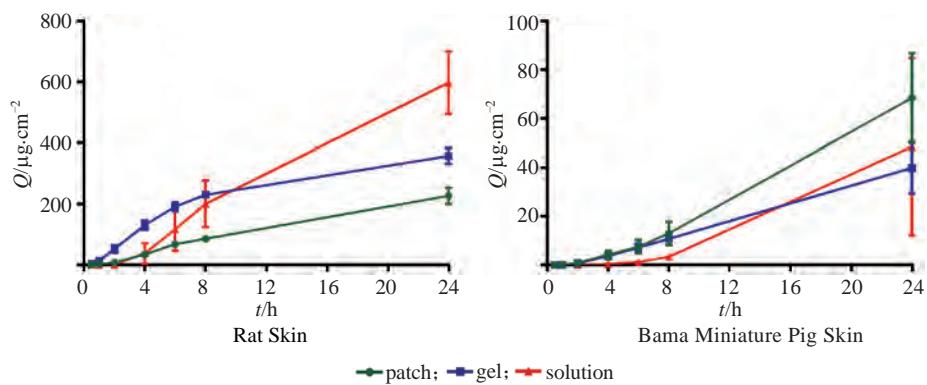
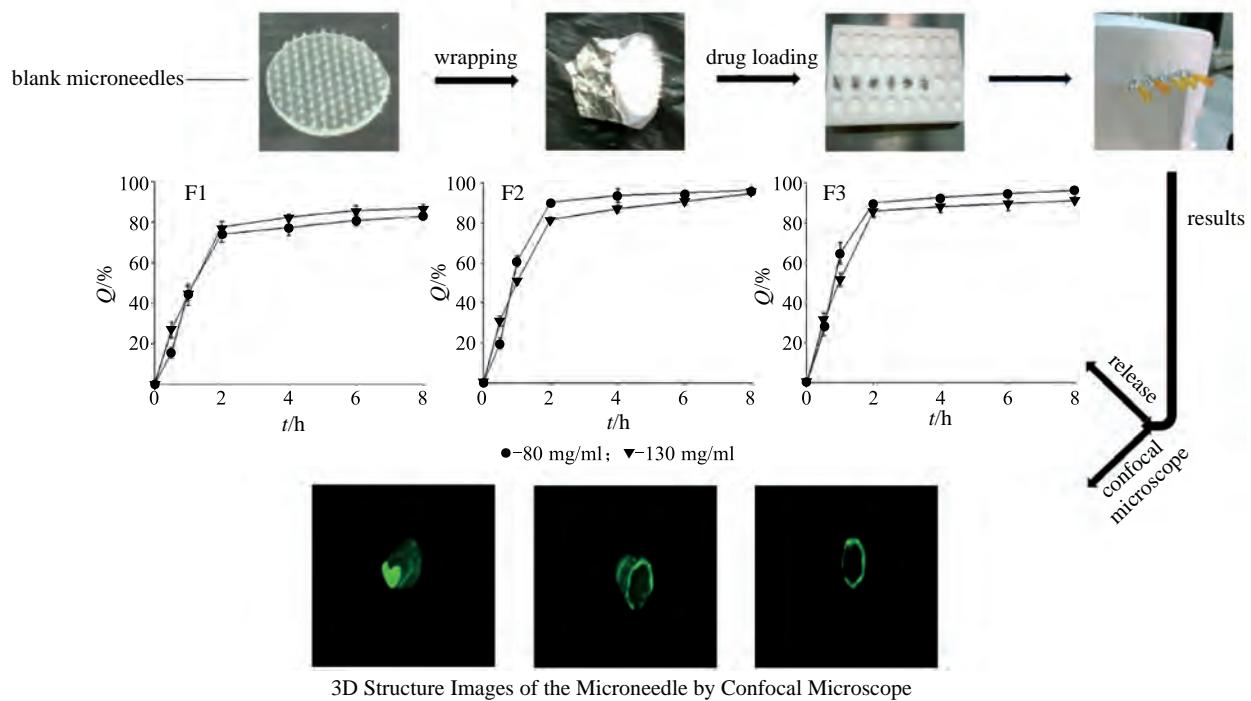
1444 大孔树脂-正相硅胶柱色谱法制备闹羊花二萜有效部位.....姚禹民, 房 鑫, 张继全, 阮克锋, 梁 爽*
 Preparation of Diterpenoid Fraction from Fruits of *Rhododendron molle* G. Don by Macroporous Resin Combined with Normal-phase Silica Gel Column Chromatography.....YAO Y M, FANG X, ZHANG J Q, RUAN K F, LIANG S*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.010

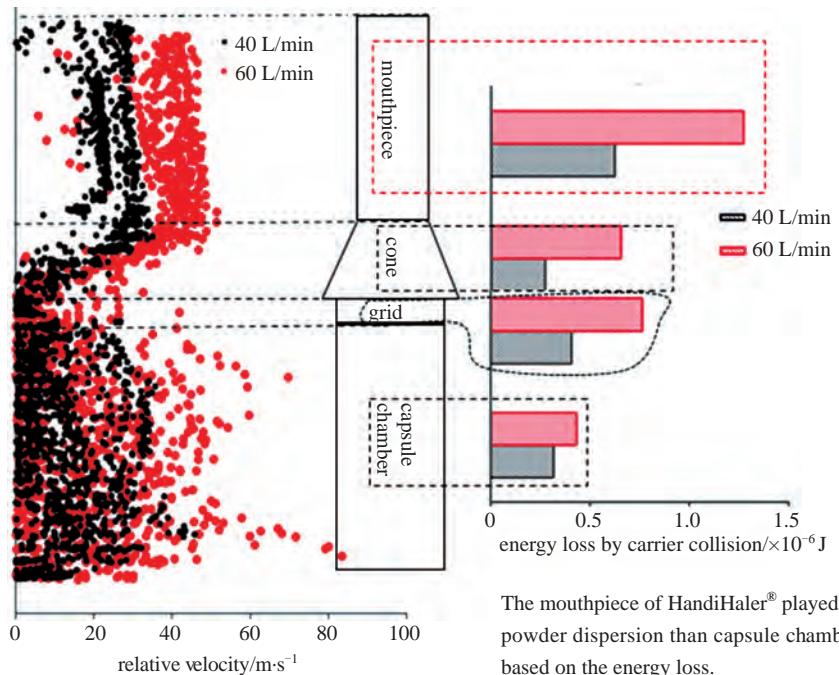


It is the first time to report the preparation process of diterpenoid fraction from fruits of *Rhododendron molle* G. Don which takes rhodojaponin III & IV as the indexes with purity no less than 50%.

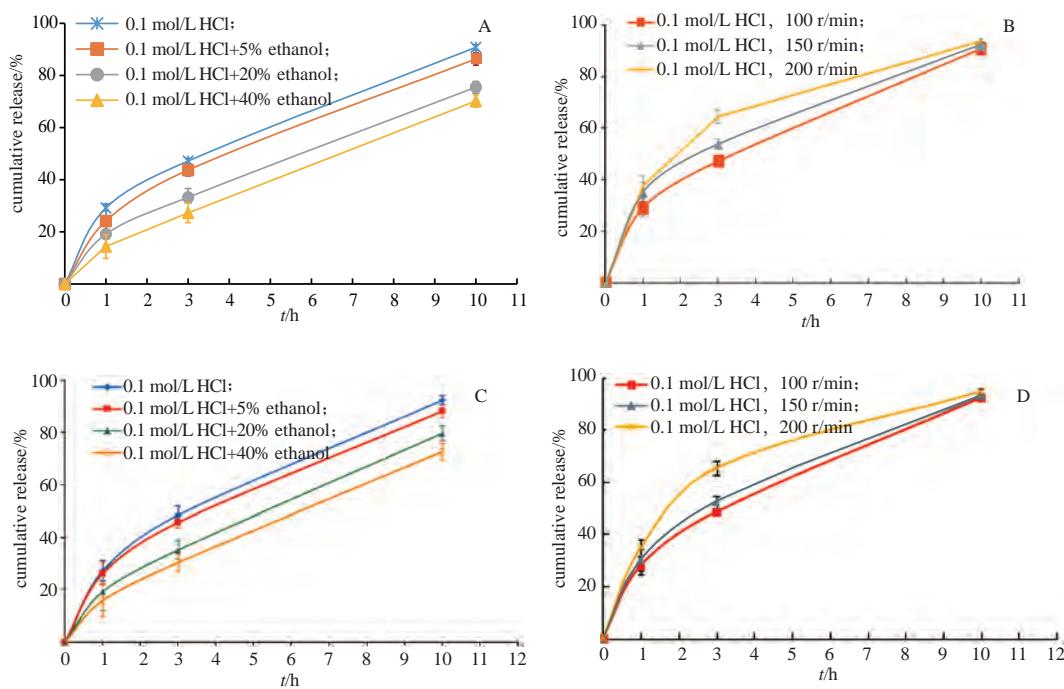
1450 琥珀布考固体分散体的制备及其Beagle犬体内药物动力学研究.....王 菁, 王 瑶, 张 磊, 张志文, 李又欣*
 Preparation of Succinobucol Solid Dispersion and Its Pharmacokinetics in Beagle Dogs.....WANG J, WANG Y, ZHANG L, ZHANG Z W, LI Y X*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.011





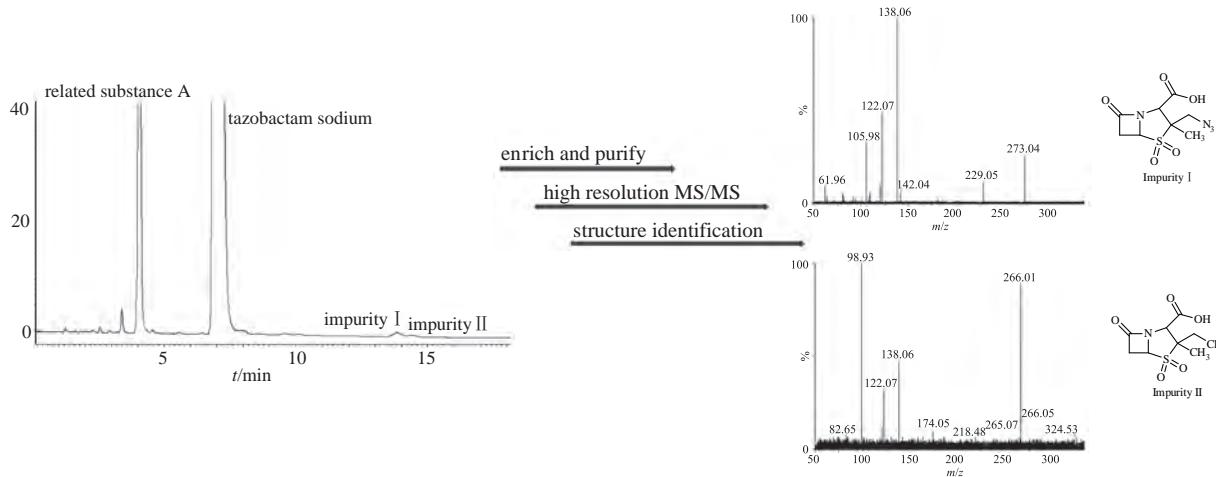


The mouthpiece of HandiHaler® played more impacts on powder dispersion than capsule chamber, cone and grid based on the energy loss.

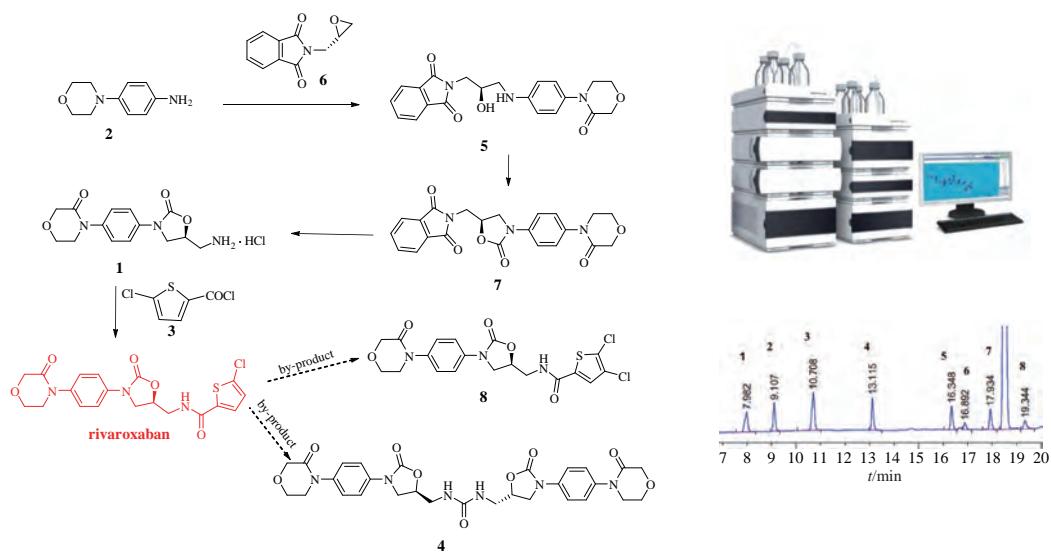


Release Profiles of Metformin Hydrochloride from the Commercial Tablets (A, B) and the Self-made Tablets (C, D)

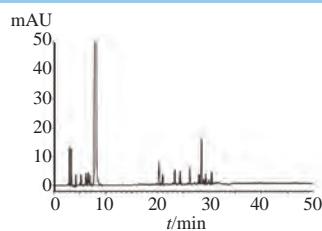
1482 他唑巴坦钠原料药中未知杂质的质谱结构研究.....陆 静, 蔡鹏俊, 李 悅*, 刘秀兰
 Structure Study of Unknown Impurities by Mass Spectrometry in Tazobactam Sodium Bulk DrugLU J, CAI P J, LI Y*, LIU X L
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.016



1487 利伐沙班有关物质的HPLC 测定.....尹秀娥, 胡小燕, 侯德粉, 张嘉月, 董 乔
 Determination of the Related Substances in Rivaroxaban by HPLC.....YIN X E, HU X Y, HOU D F, ZHANG J Y, DONG Q
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.017

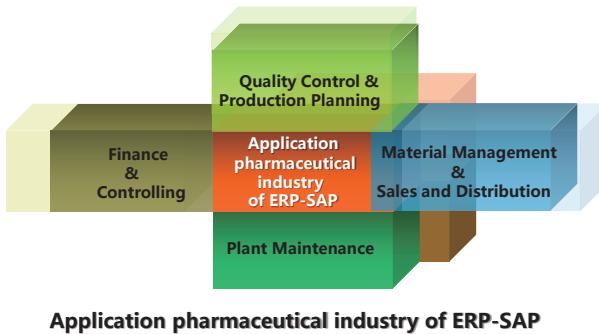


1492 阿莫西林胶囊有关物质的HPLC 法测定.....王 玮, 邓淑渊, 李翠芬, 邢 盛, 王健松
 Determination of Related Substances of Amoxicillin Capsules by HPLC.....WANG W, DENG S Y, LI C F, XING S S, WANG J S
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.018



A new HPLC method was established for simultaneous determination of amoxicillin and its 14 related substances.

- 1498 ERP+CSV在制药企业中的实施应用.....陆振宇,徐秀卉,徐蓉,沈忱*,章欢明
Implementation and Application of ERP&CSV in Pharmaceutical Manufacturers.....
.....LU Z Y, XU X H, XU R, SHEN C*, ZHANG H M
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.019



· 药学管理与信息(Pharmaceutical Management & Information) ·

- 1509 我国医药产业供给侧结构性改革的对策分析.....丁一磊
Countermeasure Analysis of Supply-side Structural Reform of Chinese Pharmaceutical Industry.....
.....DING Y L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.020

- 1514 典型发达国家药品上市价值评估的分析及应用.....颜建周,雷璐倩,邵蓉*
Analysis and Application of Drug Market Value Assessment in Typical Developed Countries.....
.....YAN J Z, LEI L Q, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.021

- 1519 分析国家药品集中采购和使用试点政策对我国仿制药企业的影响.....王成
Analysis of the Impact of National Pilot Policies on Centralized Drug Procurement and Use on Generic Pharmaceutical Enterprises in China.....WANG C
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.022

- 1524 CAR-T疗法的研发现状与展望.....杜璇
Development Status and Prospects of Chimeric Antigen Receptor T Cell (CAR-T) Therapy...DU X
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.023

- 1530 2019 年前三季度我国医药工业经济运行情况分析.....郭文,钟一鸣,周斌*
Economic Operation of Chinese Pharmaceutical Industry from January to September 2019.....
.....GUO W, ZHONG Y M, ZHOU B*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.024

· 其他 ·

《中国医药工业杂志》2018 年度索引(1537)

广告索引(1426)

《中国医药工业杂志》向审稿专家致谢(1404)

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第12期 12月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.12 December 10, 2019

©All Rights Reserved

主 管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主 办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协 办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总 编 辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副 总 编 辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责 任 编 辑	王 盈, 刘玲玲	Executive Editor	WANG Ying, LIU Lingling
出 版 单 位	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编 辑 部 地 址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电 话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传 真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电 子 邮 件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网 址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电 话	021-62126987, 62473200	Tel	021-62126987, 62473200
传 真	021-62473200	Fax	021-62473200
电 子 邮 件	ouyy@pharmadl.com	E-mail	ouyy@pharmadl.com
印 刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发 行 范 围	公开发行		
国 内 发 行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国 外 发 行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国 内 订 阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人; 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*170*zh*P*20.00* *24*2019-12

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255
CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205
国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

《中国医药工业杂志》第十六届编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF 《CHINESE JOURNAL OF PHARMACEUTICALS》

(以姓名拼音为序)

名誉主编(HONORARY EDITOR-IN-CHIEF)

桑国卫*(SANG Guowei)

主任编委(EDITOR-IN-CHIEF)

陈芬儿*(CHEN Fener)

顾问(CONSULTANT)

白 骥(BAI Hua)

蒋建东(JIANG Jiandong)

王广基*(WANG Guangji)

副主任编委(ASSOCIATE EDITOR-IN-CHIEF) (^常务副副主任编委)

陈 兵(CHEN Bing)

李明华(LI Minghua)

王 浩(^WANG Hao)

张贵民(ZHANG Guimin)

周 斌(ZHOU Bin)

编委(MEMBER OF THE EDITORIAL BOARD)

蔡正艳(CAI Zhengyan)

程卯生(CHENG Maosheng)

范代娣(FAN Daidi)

甘 勇(GAN Yong)

何 军(HE Jun)

胡又佳(HU Youjia)

李范珠(LI Fanzhu)

刘玲玲(LIU Lingling)

龙亚秋(LONG Yaqiu)

罗国强(LUO Guoqiang)

潘红娟(PAN Hongjuan)

沈 琦(SHEN Qi)

孙小强(SUN Xiaoqiang)

涂家生(TU Jiasheng)

王 健(WANG Jian)

王玉成(WANG Yucheng)

吴 勇(WU Yong)

杨苏蓓(YANG Subei)

张福利(ZHANG Fuli)

张卫东(ZHANG Weidong)

赵文杰(ZHAO Wenjie)

钟为慧(ZHONG Weihui)

朱建英(ZHU Jianying)

陈凯先*(CHEN Kaixian)

孔德云(KONG Deyun)

吴晓明(WU Xiaoming)

陈代杰(^CHEN Daijie)

林剑秋(LIN Jianqiu)

王军志*(WANG Junzhi)

张 霽(ZHANG Ji)

周伟澄(^ZHOU Weicheng)

丁 健*(DING Jian)

李绍顺(LI Shaoshun)

杨胜利*(YANG Shengli)

陈桂良(CHEN Gui liang)

潘广成(PAN Guangcheng)

魏宝康(WEI Baokang)

张万斌(ZHANG Wanbin)

朱建伟(ZHU Jianwei)

侯惠民*(HOU Huimin)

沈竞康(SHEN Jingkang)

朱宝泉(ZHU Baoquan)

胡文浩(HU Wenhao)

唐 岳(TANG Yue)

杨 超(YANG Chao)

张绪穆(ZHANG Xumu)

陈笑艳(CHEN Xiaoyan)

董 琳(DONG Lin)

傅 磊(FU Lei)

郭 文(GUO Wen)

胡海峰(HU Haifeng)

金 拓(JIN Duo)

刘东飞(LIU Dongfei)

柳 红(LIU Hong)

陆伟跃(LU Weiyue)

马 璞(MA Jing)

邵 蓉(SHAO Rong)

孙会敏(SUN Huimin)

陶 涛(TAO Tao)

王建新(WANG Jianxin)

王 彦(WANG Yan)

吴 伟(WU Wei)

杨 明(YANG Ming)

尤启冬(YOU Qidong)

张庆文(ZHANG Qingwen)

赵临襄(ZHAO Linxiang)

钟大放(ZHONG Dafang)

周一萌(ZHOU Yimeng)

*院士

《中国医药工业杂志》编辑部成员(EDITORIAL STAFF)

总编辑(Managing Editor): 周伟澄(ZHOU Weicheng)

副总编辑(Associate Managing Editor): 黄志红(HUANG Zhihong), 刘玲玲(LIU Lingling)

责任编辑(Editor): 刘玲玲(LIU Lingling)(兼), 王 盈(WANG Ying), 许文倩(XU Wenqian)

美术编辑(Art Editor): 沈建成(SHEN Jiancheng), 陆燕玲(LU Yanling), 钱苗苗(QIAN Miaomiao)

编辑助理(Editorial Assistant): 韦旭华(WEI Xuhua)

广告、发行负责(Avertisement Manager): 刘敬岩(LIU Jingyan), 金 雷(JIN Lei), 欧阳怡(OUYANG Yi)

利伐沙班有关物质的 HPLC 测定

尹秀娥¹, 胡小燕², 侯德粉¹, 张嘉月¹, 董 乔²

(1. 沈阳沈化院测试技术有限公司, 辽宁沈阳 110021; 2. 辽宁远大诺康生物制药有限公司, 辽宁沈阳 110171)

摘要: 建立了高效液相色谱法检测利伐沙班中的有关物质。采用 Ultimate LP C₁₈ 色谱柱, 以磷酸二氢钠溶液 (pH 5.5) : 乙腈为流动相, 线性梯度洗脱, 检测波长 250 nm。在本色谱条件下, 利伐沙班与 8 个有关物质均能达到基线分离。利伐沙班与有关物质 **1**、**3**、**4**、**5**、**8** 在 0.1 ~ 2.5 μg/ml 浓度范围内线性良好, 定量限和检出限分别为 0.05 和 0.02 μg/ml, 加样回收率为 97.9% ~ 104.3%, RSD 为 1.12% ~ 1.78% (n=9)。本方法专属性好、准确度高、重现性好, 可有效检测利伐沙班中的有关物质, 为其质量控制提供参考。

关键词: 利伐沙班; 有关物质; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: O657.7⁺²; TQ460.7⁺² 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2019)12-1487-05

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.12.017

Determination of the Related Substances in Rivaroxaban by HPLC

YIN Xiue¹, HU Xiaoyan², HOU Defen¹, ZHANG Jiayue¹, DONG Qiao²

(1. Shenyang SYRICI Testing Co., Ltd., Shenyang 110021; 2. Liaoning Grand Nuokang Biopharmaceutical Co., Ltd., Shenyang 110171)

ABSTRACT: An HPLC method was established for the determination of the related substances in rivaroxaban. An Ultimate LP C₁₈ column was used, with the mobile phase of sodium dihydrogen phosphate solution (adjusted to pH 5.5) : acetonitrile by gradient elution, at the detection wavelength of 250 nm. Rivaroxaban and its 8 related substances could achieve baseline separation under this chromatographic condition. Rivaroxaban and related substances **1**, **3**, **4**, **5**, **8** were linear in the range of 0.1 - 2.5 μg/ml. The quantitation limits of the related substances were 0.05 μg/ml, and the detection limits were 0.02 μg/ml. The average recoveries of the related substances were between 97.9% and 104.3%, with RSDs (n=9) between 1.12% and 1.78%. This method has good specificity, high accuracy and reproducibility, and it is suitable for the determination of related substances in rivaroxaban, which provides a reliable method for the quality control of the drug.

Key Words: rivaroxaban; related substance; content determination; HPLC

利伐沙班 (rivaroxaban, 商品名 Xarelto) 是由拜耳公司和强生公司联合研制的口服抗凝药, 2011 年 7 月获得美国 FDA 批准上市, 是全球第一个直接抑制 X a 因子的口服抗凝药, 市场前景广阔^[1-3]。其主要工艺合成路线是以 4-(4-氨基苯基) 吗啉-3-酮和 (S)-N-缩水甘油邻苯二甲酰亚胺为原料, 经胺解、环合、肼解、酰化, 再经重结晶精制获得^[4-11]。

结合上述工艺路线和可能的降解产物分析, 利伐沙班可能存在的有关物质主要有 8 种, 详见表 1。

目前行业内对于利伐沙班有关物质的检测大都采用国家进口注册标准方法^[12], 该方法只对表 1 中的有关物质 **4** 和 **7** 进行控制; 也有文献报道利伐沙班有关物质的检测方法^[13-15], 但均未对有关物质 **2**、**3**、**6**、**7** 进行控制, 且经实际验证使用现有检测方法测定有关物质 **1** ~ **4** 时均存在保留时间短、分离度差、峰形不佳、重现性不好、基线干扰等问题。

本研究建立了利伐沙班有关物质的 HPLC 测定法, 可以有效解决上述问题, 并通过方法学验证证

收稿日期: 2019-05-19

作者简介: 尹秀娥(1988—), 女, 硕士, 药学类工程师, 主要从事药物分析工作。

Tel: 13889805379

E-mail: xiaofeixiang@126.com

明该方法可为利伐沙班的质量研究提供参考。

1 仪器与试药

1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司)。利伐沙班原料药(照文献自制^[4], 批号170205、170428和170606);利伐沙班片剂(照文献自制^[16], 批号170316);有关物质对照品1~5和7(含量大于98.0%)和利伐沙班对照品(含量99.7%)(加拿大TLC Pharmaceutical Standards Ltd.);有关物质6和8(加拿大Toronto Research Chemicals公司, 含量大于98%);乙腈(色谱纯), 磷酸二氢钠二水合物(药检专用), 其他试剂均为分析纯, 水为自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱Ultimate LP C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);预柱岛津Ghost Trap DS杂质捕集小柱(7.6 mm×30 mm, 安装于泵液系统之后、进样器之前);流动相A磷酸二氢钠溶液(取磷酸二氢钠二水合物1.56 g, 溶于水1 L中, 加0.5 mol/L氢氧化钠溶液调至pH 5.5), B乙腈, 线性梯度洗脱(0—

5 min, B 5%; 5—18 min, B 5%—51%; 18—25 min, B 5%);检测波长250 nm;柱温35℃;流速1.0 ml/min;进样量5 μl。

2.2 溶液的制备

混合溶剂:流动相A:流动相B(50:50)。

利伐沙班对照品溶液:精密称取利伐沙班对照品约25 mg,置50 ml量瓶中,加入混合溶剂溶解并定容,摇匀,作为利伐沙班对照品溶液。

有关物质对照品贮备溶液:精密称取有关物质1~8对照品各约25 mg,分别置50 ml量瓶中,加入混合溶剂溶解并定容,摇匀,制得0.5 mg/ml的有关物质对照品贮备溶液。

分离度溶液:精密称取利伐沙班原料药约25 mg,置50 ml量瓶中,再精密量取各有关物质对照品贮备溶液0.5 ml,用混合溶剂溶解并定容,摇匀,作为分离度溶液。

供试品溶液:精密称取利伐沙班原料药约25 mg,置50 ml量瓶中,加入混合溶剂溶解并定容,摇匀,作为供试品溶液。

表1 利伐沙班有关物质列表

Tab.1 List of the Related Substances of Rivaroxaban

有关物质	结构式	化学名	推测来源
1		(R)-4-[4-[5-(氨甲基)-2-𫫇唑烷-3-基]苯基]吗啉-3-酮盐酸盐	降解/中间产物
2		4-(4-氨基苯基)吗啉-3-酮	起始原料
3		5-氯噻吩-2-羧酸	起始原料/降解
4		1,3-二-[[2-氧代-3-[4-(3-氧代吗啉-4-基)苯基]-1,3-𫫇唑烷-5-基]甲基]脲	副产物
5		(R)-2-[2-羟基-3-[[4-(3-氧代吗啉)苯基]氨基]丙基]异吲哚-1,3-二酮	中间产物
6		(S)-2-(环氧乙烷-2-基甲基)异吲哚-1,3-二酮	起始原料
7		2-[(5S)-2-氧代-3-[4-(3-氧代-4-吗啉基)苯基]-5-𫫇唑烷基]甲基-1H-异吲哚-1,3(2H)-二酮	中间产物
8		4,5-二氯-N-[(5S)-2-氧代-3-[4-(3-氧代-4-吗啉基)苯基]-5-𫫇唑烷基]甲基]-2-噻吩酰胺	副产物

片剂供试品溶液：取利伐沙班片剂，研成均匀粉末，精密称取粉末适量（含利伐沙班约25 mg），置50 ml量瓶中，加入适量混合溶剂超声溶解，放冷至室温，用混合溶剂定容，摇匀，必要时用0.45 μm滤膜过滤，备用。

2.3 色谱峰定位试验

精密吸取各有关物质对照品贮备液、供试品溶液及分离度溶液各5 μl，注入液相色谱仪，照“2.1”项下色谱条件进行测定，记录色谱图（图1），可见各有关物质均能得到良好的分离。

2.4 专属性试验

精密称取利伐沙班原料药适量，分别进行酸（加入2 ml的1 mol/L盐酸溶液，85 °C加热40 min）、碱（加入2 ml的1 mol/L氢氧化钠溶液，85 °C加热10 min）、氧化（加入2 ml的5%过氧化氢溶液，

85 °C加热60 min）、高温（100 °C加热24 h）、光照[（4 500±500）1x照射15 d]破坏，其中酸碱破坏后样品须中和，然后照“2.2”项下方法制备供试品溶液，作为强降解产物溶液。

取上述5种强降解产物溶液注入液相色谱仪，照“2.1”项色谱条件进行测定。结果表明，利伐沙班在高温和光照条件下较稳定，图谱中未见新的降解产物峰，但经酸、碱、氧化破坏后的主要降解产物与主成分之间均有较好的分离度（色谱图见图2），所有降解试验物料平衡率为95.3%～103.7%。

2.5 线性试验

精密量取利伐沙班对照品溶液及其有关物质1、3、4、5、8对照品贮备溶液各5.0 ml，置同一100 ml量瓶中，用混合溶剂定容，摇匀，作为有关物质线性贮备溶液。

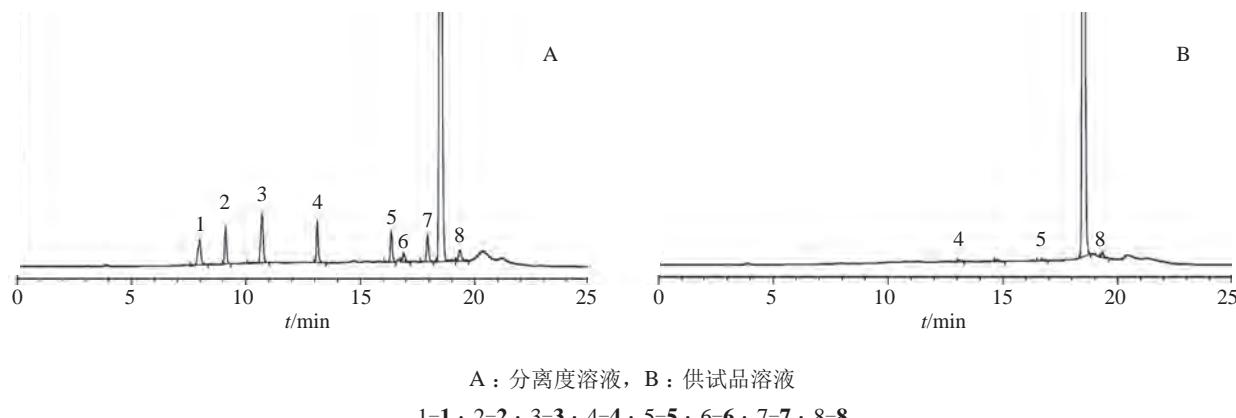


图1 分离度溶液和供试品溶液HPLC色谱图

Fig.1 HPLC Chromatograms of Separation Solution and Test Solution

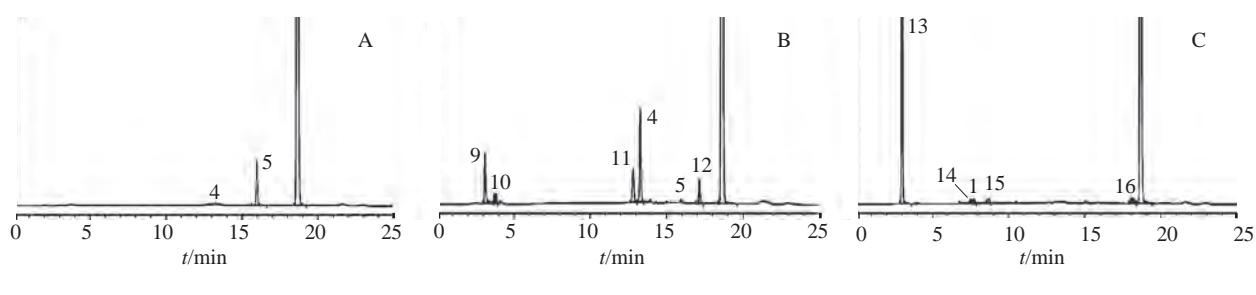


图2 破坏性试验HPLC色谱图

Fig.2 HPLC Chromatograms of Stress Test

精密量取上述有关物质线性贮备溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 ml，分别置 50 ml 量瓶中，用混合溶剂定容，摇匀，作为有关物质线性溶液。

精密量取各有关物质线性溶液 5 μ l，注入液相色谱仪，照“2.1”项下色谱条件测定，记录色谱图。采用最小二乘法以峰面积 (A) 对质量浓度 (c) 进行线性回归，结果显示线性关系良好。取最低浓度的有关物质线性溶液，用混合溶剂逐级稀释，测得有关物质的定量限 (LOQ) 与检出限 (LOD)，将定量限浓度样品重复进样 5 次，RSD 均小于 5%。结果见表 2。

2.6 回收率试验

精密称取利伐沙班原料药约 25 mg，置 50 ml 量瓶中，分别精密量取“2.5”项下有关物质线性贮备溶液 0.1、1.0、5.0 ml，加入混合溶剂溶解并定容，摇匀，配制成低、中、高浓度的回收率试验溶液，每个浓度平行制备 3 份，分别进样测定。结果有关物质 1、3、4、5、8 的平均回收率分别为 98.6%、97.9%、101.6%、99.0% 和 104.3%，RSD (n=9) 分别为 1.42%、1.36%、1.12%、1.78% 和 1.69%。

2.7 重复性和溶液稳定性试验

精密称取利伐沙班原料药约 25 mg，置 50 ml 量瓶中，精密量取“2.5”项下有关物质线性贮备溶液 1.0 ml，加入混合溶剂溶解并定容，摇匀，平行制备 6 份样品，作为重复性试验样品溶液，分别进样测定。结果有关物质 1、3、4、5、8 含量的 RSD 分别为 0.78%、0.69%、0.57%、0.82% 和 0.67%，表明方法重复性良好。

取上述重复性试验样品溶液 1 份，分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定，结果主峰面积的 RSD (n=6)

为 0.79%，各有关物质峰面积的 RSD 均小于 1.0%，且无新的有关物质检出，表明供试品溶液在室温条件下放置 24 h 稳定。

2.8 耐用性试验

取供试品溶液和分离度溶液分别进样测定，以色谱峰的分离度和各有关物质的含量和个数为指标，分别考察了不同型号色谱柱 [YMC-Pack ODS-AL C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m) 和 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m)]、流速 (0.8 和 1.2 ml/min)、流动相 pH 值 (5.0 和 6.0) 等条件变化对检测结果的影响。结果表明，上述考察项目均不影响检测结果。

2.9 样品测定

取 3 批利伐沙班原料药 (批号 170205、170428、170606) 和 1 批利伐沙班片剂供试品溶液 (批号 170316)，按“2.2”项方法制备供试品溶液和片剂供试品溶液，进样测定，按外标法计算主成分和已知有关物质含量，按主成分自身对照法计算未知有关物质含量，检测结果见表 3。

表 3 各批供试品检测结果

Tab.3 The Result of Each Sample

批号	含量/%						
	1	3	4	5	8	未知杂质	利伐沙班
170205	- ^①	- ^①	0.01	0.02	0.03	0.02	99.4
170428	- ^①	- ^①	0.01	0.02	0.02	0.02	99.7
170606	- ^①	- ^①	0.01	0.02	0.03	0.01	99.6
170316	- ^①	- ^①	0.01	0.02	0.02	0.02	99.2

注：^①未检出

3 讨论

本研究是在现有文献基础上进行的方法改进^[12]。

表 2 利伐沙班及其有关物质的线性试验及 LOQ、LOD 结果
Tab.2 Linearities, LOQs and LODs for Rivaroxaban and Its Related Substances

成分	线性回归方程	浓度范围/ μ g·ml ⁻¹	LOQ/ μ g·ml ⁻¹	LOD/ μ g·ml ⁻¹
1	$A=1.500\times10^4c-219.5, r^2=0.999\ 5$	0.1~2.5	0.05	0.02
3	$A=1.624\times10^4c+119.6, r^2=0.999\ 7$	0.1~2.5	0.05	0.02
4	$A=1.320\times10^4c-109.5, r^2=0.999\ 4$	0.1~2.5	0.05	0.02
5	$A=0.934\times10^4c+2297, r^2=0.999\ 5$	0.1~2.5	0.05	0.02
8	$A=1.148\times10^4c+3060, r^2=0.998\ 8$	0.1~2.5	0.05	0.02
主成分	$A=1.621\times10^4c+19.67, r^2=0.998\ 0$	0.1~2.5	0.05	0.02

采用现有方法分析利伐沙班分离度溶液，得到的图谱基线干扰较多，保留时间短的色谱峰峰形和分离度均不好。本研究改进的依据和优势主要基于以下几个方面：①采用了一类特殊的端基不封尾的C₁₈色谱柱，该类色谱柱由于固定相上残存硅醇基的二级作用，提供了与常规端基封尾色谱柱不同的色谱选择性，尤其适用于分离在普通C₁₈柱上保留时间比较短的化合物；另外，该类色谱柱由于残存硅醇基的存在，比端基封尾色谱柱更耐水，可避免由于封尾小基团水解而导致的色谱柱不稳定，因此本研究采用的色谱柱在高比例水性流动相条件下的使用寿命更长、性能更稳定。②结合待测有关物质的结构特性，将流动相pH值调节为弱酸性，改变了色谱峰保留行为，分离度更好。③通过调整梯度洗脱起始有机相比例及洗脱程序，延长了待测有关物质与固定相的相互作用时间。④使用混合溶剂，减少了溶剂效应对峰形的影响。⑤使用杂质捕集小柱，不影响样品在色谱系统中的洗脱和响应，能够有效排除空白溶剂干扰，避免手动扣除或软件自动扣除空白溶剂峰时的结果误差。

本试验所述有关物质主要分为3大类：有关物质**1、3**为降解杂质，有关物质**1、2、3、5、6、7**为起始原料或合成中间体，有关物质**4**和**8**为合成副产物，其中有关物质**1**和**3**既是起始原料又是降解产物。再结合利伐沙班的合成工艺和多批样品检测结果，将有关物质**1、3、4、5、8**在最终产品中控制，其他杂质进行过程控制。

自制利伐沙班原料药中各有关物质含量均小于0.1%，利伐沙班片中未见降解杂质增加，说明适宜条件下贮存，自制利伐沙班质量和稳定性均良好。

参考文献：

- [1] 田国祥, 魏万林, 张灵, 等. 后华法林时代口服抗凝新秀: 达比加群、利伐沙班、阿哌沙班[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2011, 12(3): 403-406.
- [2] 陈华云. 新型抗凝药物[J]. 国际输血及血液学杂志, 2007, 30(6): 513-516.
- [3] 陈怡琳. 抗凝新药利伐沙班临床研究进展[J]. 心血管病学进展, 2009, 30(5): 810-813.
- [4] 戴川, 赵圣轩, 陈宇瑛. 利伐沙班合成工艺研究[J]. 化学研究与应用, 2016, 28(1): 129-133.
- [5] ALEXANDER S, THOMAS L, JEN P, et al. Substituted oxazolidinones and their use in the field of blood coagulation: US, 7592339 [P]. 2009-09-22.
- [6] SONY Y H, ZHU B Y, WANG S M, et al. Tetrahydroisoquinolines as factor Xa inhibitors: WO, 2006055951 [P]. 2006-05-26.
- [7] PRABHUDAS B, GAMINI W. Processes for the preparation of rivaroxaban and intermediates thereof: WO, 2010124385 [P]. 2010-11-04.
- [8] 戴川, 赵圣轩, 林世博, 等. 利伐沙班工业化生产合成路线分析[J]. 中国药业, 2015, 24(21): 4-8.
- [9] MASSE C E. Substituted oxazolidinone drivatives: WO, 2009023233 [P]. 2009-02-19.
- [10] 杨银萍, 王红波, 马庆文. 利伐沙班的合成工艺改进[J]. 中国药物化学杂志, 2013, 23(1): 26-29.
- [11] 陈诚, 潘振涛, 罗文俊, 等. 利伐沙班的合成工艺研究[J]. 精细化工中间体, 2015, 45(1): 53-56.
- [12] 国家食品药品监督管理总局. 利伐沙班片进口注册标准 JX20080077 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2009.
- [13] 袁利杰, 刘辉, 杨本霞, 等. HPLC法测定利伐沙班片的含量和有关物质[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(4): 699-704.
- [14] 石宛平, 汪娟, 何乐, 等. HPLC法测定利伐沙班有关物质[J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(8): 627-631.
- [15] 黄艳, 陈雪云, 杨雪峰, 等. 高效液相色谱法测定利伐沙班中的有关物质[J]. 中国当代医药, 2017, 24(24): 78-81.
- [16] 拜尔制药股份公司. 用于制备可口腔给药的固态药物组合物的方法: 中国, 1886120A [P]. 2006-12-27.