

LC-MS 法鉴定利伐沙班有关物质

刘超逸¹, 张戈¹, 杭太俊¹, 王磊², 张晓飞², 宋敏^{1*}(¹ 中国药科大学药物分析教研室, 南京 210009; ² 江苏嘉逸医药有限公司, 南京 211106)

摘要 采用 LC-MS 法对利伐沙班有关物质进行结构鉴定。采用 Inert Sustain C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以含 0.2% 甲酸的乙腈-水为流动相线性梯度洗脱, 对利伐沙班及其强制降解产生的有关物质进行分离; 电喷雾正离子化高分辨 TOF/MS 检测, 结合 MS/MS 法和对照品对照鉴定各有关物质的结构。在所建立的条件下, 利伐沙班及其有关物质分离良好, 检测到 15 个有关物质, 分别为利伐沙班合成起始原料或由起始原料引入的有关物质 (3 个)、合成副产物 (4 个) 和降解产物 (10 个)。建立的 LC-MS 法能有效鉴定利伐沙班有关物质, 为其工艺过程控制和质量保障提供参考依据。

关键词 利伐沙班; 有关物质; 降解产物; 结构鉴定; LC-MS 法

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)04-0450-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150411

Identification of related substances in rivaroxaban by LC-MS

LIU Chaoyi¹, ZHANG Ge¹, HANG Taijun¹, WANG Lei², ZHANG Xiaofei², SONG Min^{1*}¹ Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;² Jiangsu Jiayi Pharmaceuticals Corporation, Nanjing 211106, China

Abstract An LC-MS method was established for the identification of the related substances in rivaroxaban. HPLC separation was carried out on an Inert Sustain C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with linear gradient elution using a mobile phase consisting of 0.2% formic acid acetonitrile and 0.2% formic acid aqueous solution. Rivaroxaban and its related substances could be completely separated under the established HPLC conditions. The structures of the related substances were identified by electrospray positive ESI high resolution TOF/MS and MS/MS spectra determination and elucidation, and further verified through reference substances. Fifteen related substances were detected and identified to be three related substances of starting materials, four synthetic by-products and ten degradation products. The established method is useful for the identification of the related substances in rivaroxaban. The results obtained are valuable for its manufacturing control and quality assurance.

Key words rivaroxaban; related substances; degradation products; structure identification; LC-MS

利伐沙班 (rivaroxaban) 即 5-氯-N-((5S)-2-氧代-3-(4-(3-氧代吗啉-4-基)苯基)-1,3-噁唑啉-5-基)甲基)噁吩-2-甲酰胺 (图 1), 属于直接 Xa 因子抑制剂, 临床用于择期髋关节或膝关节置换术的成年患者, 以预防静脉血栓形成^[1-3]。关于利伐沙班质量研究与药代研究已有文献报道^[4-7], 针对利伐沙班有关物质的系统研究与鉴定报道较少^[8]。

本研究建立了适用于利伐沙班有关物质检查的 LC-MS 法, 通过杂质对照品对照, 鉴定利伐沙班

有关物质的结构; 并分析强制降解试验产生杂质, 研究利伐沙班的降解途径, 为其工艺过程控制和质量保障提供参考依据^[9-10]。

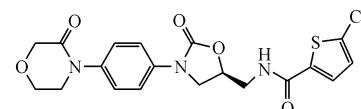


Figure 1 Chemical structure of rivaroxaban

1 材料

1.1 试剂

利伐沙班片(批号 TLF140605)及有关物质对照品 A~G(表 1, 江苏嘉逸医药有限公司); 市售利伐沙班片(批号 BXG9601, 拜耳保健股份公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 其余试剂均为市售分析纯。自制去离子水。

1.2 仪器

1290 Infinity 液相色谱-6224 飞行时间质谱仪(美国安捷伦科技公司); TSQ Quantum Ultra AM 型 LC-MS/MS 联用仪(美国热电公司); BS 21S 电子天平(德国赛多利斯公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

Inert Sustain C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: 0.2% 甲酸水溶液-乙腈(93:7), 流动相 B: 0.2% 甲酸乙腈, 线性梯度洗脱(A: B): 0 min(100:0) → 7 min(100:0) → 8 min(88:12) → 38 min(40:60) → 44 min(10:90) → 45 min(100:0) → 55 min(100:0)。流速: 1 mL/min, 检测波长: 250 nm; 进样量: 20 μL。

2.2 质谱条件

电喷雾正离子化检测模式, TOF/MS 测定喷雾电压 4 kV, 雾化氮气压力 275 kPa, 流量 10 L/min, 温度 350 °C, 碎片电压 200 V, 参比离子 *m/z* 121.050 8 和 922.009 8, 质量数扫描范围 *m/z* 100~1 200。MS/MS 测定碰撞氩气压 0.20 Pa, 碰撞能量 20 eV。

2.3 样品处理

2.3.1 供试品溶液 精密称取利伐沙班片细粉适量(约相当于利伐沙班 10 mg), 用混合溶剂(乙腈-水, 3:2)5 mL 溶解后用起始比例流动相稀释成质量浓度约为 1 mg/mL 的溶液作为供试品溶液。

2.3.2 强制降解供试品溶液 取利伐沙班片细粉适量(约相当于利伐沙班 10 mg)多份, 分别经 10% 过氧化氢溶液 1 mL 90 °C 水浴 2.5 h、1 mol/L 盐酸溶液 1 mL 90 °C 水浴 2.5 h、1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 90 °C 水浴 2 min、起始比例流动相 1 mL 90 °C 水浴 5 d 或起始比例流动相 1 mL 光照(4 500 lx) 5 d, 强制降解破坏处理后, 分别加乙腈 3 mL 溶解(酸和碱破坏样品先中和), 再用起始比例流动相

稀释至 10 mL(相当于供试液质量浓度 1 mg/mL), 过滤, 取续滤液作为不同强制降解试验供试品溶液。

2.3.3 杂质混合对照溶液 取利伐沙班有关物质 A~G 对照品各适量, 精密称定, 用乙腈分别溶解并定量稀释, 制成质量浓度约为 1 mg/mL 的溶液作为对照品储备溶液。取各对照品储备溶液适量, 用起始比例流动相定量稀释成质量浓度约为 10 μg/mL 的溶液作为杂质混合对照溶液。

3 结果

3.1 有关物质检查

利伐沙班及其强制降解供试品溶液 HPLC 检查的图谱见图 2。结果表明, 两利伐沙班供试品中有关物质的总量均小于 0.5%, 单个杂质含量均未超过 0.1%。对主要有关物质峰按保留时间顺次编号为 1~15。供试品溶液中(图 2,b,c)有 5 个主要有关物质(5、6、8、10 和 13), 分别与有关物质 B、C、D、E 和 F 对照品色谱保留一致。

强制降解供试品溶液共产生 10 个主要降解产物。对降解产物分别经有关物质对照品对照和 LC-MS 法鉴定。结果表明: 本品在高温和光照条件下相对稳定, 未测得明显降解产物(未提供色谱图); 氧化破坏形成 6 个主要降解产物(图 2,d), 分别为有关物质 2、3、4、9、14 和 15; 酸破坏形成 2 个主要降解产物(图 2,e), 分别为有关物质 11 和 15; 碱破坏形成 5 个主要降解产物, 分别为有关物质 1、3、4、7 和 12(图 2,f)。各降解产物与主峰均分离良好。

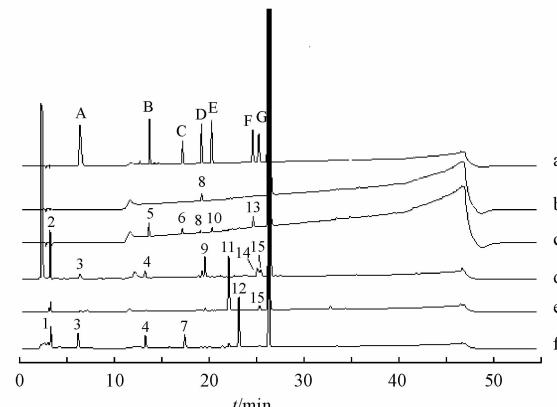


Figure 2 HPLC chromatograms of rivaroxaban and its stress test solutions

a: Mixed solution of impurity reference substances; b: Rivaroxaban tablets (TLF140605); c: Rivaroxaban tablets (BXG9601); d: Oxidative stress solution; e: Acid stress solution; f: Alkaline stress solution

3.2 有关物质结构的鉴定

各有关物质均采用电喷雾正离子化质谱检测。LC-TOF/MS 测得这些有关物质母离子的准确质量

和元素组成,再根据三重四极质谱测得的二级质谱(MS/MS)碎片及裂解规律分析,推定有关物质的结构。各有关物质的色谱、质谱信息见表1。

Table 1 Structures of related substances in rivaroxaban identified by LC-TOF and LC-MS/MS

No. *	$[\text{M} + \text{H}]^+$ (m/z)	t_{R}/ min	Ion formula	Dif.	Fragments (m/z)	Chemical structure	Chemical name	Proposed origins
1	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 211, 106 2	3.5	$[\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3]^+$	6.82	135, 118, 108		(2-(4-Amino-phenylamino)ethoxy)acetic acid	Degradation
2	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 292, 130 7	3.5	$[\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4]^+$	5.2	237, 231, 219, 205, 193, 56		(E)-N-(3-aminoprop-1-en-1-yl)-N-(4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl)-carbamic acid	Degradation
3 *(A)	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 292, 129 7	6.5	$[\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4]^+$	1.86	237, 231, 219, 205, 193, 56		4-(4-(5(S)-aminomethyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl)phenyl)morpholin-3-one	Starting material and degradation
4	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 235, 033 4	13.8	$[\text{C}_8\text{H}_{12}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}]^+$	0.02	218, 217, 174, 145		5-Chloro-N-[(2-hydroxy-3-amino) propyl] thiophene-2-carboxamide	Degradation
5 *(B)	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 334, 140 6	14.1	$[\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5]^+$	-2.43	292, 237, 231, 205		4-(4-(5(S)-N-acetoxy-aminomethyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl)phenyl)morpholin-3-one	By-product
6 *(C)	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 609, 251 9	17.6	$[\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_9]^+$	-2.49	318, 292, 231, 205		1,3-Bis-[(2-oxo-3-(4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl)-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl] urea	By-product
7	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 428, 105 6	17.9	$[\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}]^+$	-2.67	410, 325, 249, 218, 210, 209		(2-(4-(2-Hydroxy-3-(5-chlorothiophene-2-carboxamido)propylamino)phenylamino)ethoxy)acetic acid	Degradation
8 *(D)	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 713, 257 0	19.7	$[\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{N}_6\text{O}_{10}]^+$	-0.6	422, 292		N,N'-Bis-[(2-oxo-3-(4-(3-oxo-morpholin-4-yl)phenyl)-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl] phthalamide	By-product
9	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 261, 010 7	19.9	$[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}]^+$	4.91	217, 200, 162, 145, 56		5-Chloro-N-(((5S)-2-oxo-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl)thiophene-2-carboxamide	Degradation
10 *(E)	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 402, 111 4	20.7	$[\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}]^+$	1.05	318, 231, 111		(5S)-N-((2-oxo-3-(4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl)-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl)thiophene-2-carboxamide	By-product
11	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 454, 085 8	22.3	$[\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}_6\text{S}]^+$	5.25	408, 378, 264, 249, 223, 209, 145		(5S)-2-[2-(N-(4-(5-(5-chlorothiophene-2-carboxamido)methyl)-2-oxo-1,3-oxazolidin-5-yl)phenyl)amino]ethoxy]acetic acid	Degradation
12	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 410, 095 5	23.5	$[\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}]^+$	-4.59	392, 231, 218, 145		5-Chloro-(2-hydroxy-3-N-((4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl)amino)propyl)thiophene-2-carboxamide	Degradation
13 *(F)	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 422, 135 1	24.7	$[\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_6]^+$	-1.13	231, 205, 186, 130		(S)-2-[(2-oxo-3-(4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl)-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl] isoindoline-1,3-dione	Starting material

(Continued)

No.*	$[M + H]^+$ (m/z)	t_R min	Ion formula	Dif	Fragments (m/z)	Chemical structure	Chemical name	Proposed origins
14	$[M + H]^+$ 468.064 3	25.0	$[C_{19}H_{19}ClN_3O_5S]^+$	3.48	451,434,423, 406,273,261		5-Chloro-N-oxo-N-[((5S)-2-oxo-3-(4-(N-oxo-3-oxomorpholin-4-yl)phenyl)-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl]thiophene-2-carboxamide	Degradation
15*(G)	$[M + H]^+$ 162.961 8	25.3	$[C_5H_4ClO_2S]^+$	2.19	119,81		5-Chlorothiophene-2-carboxylic acid	Starting material and degradation

*: Impurity reference substance

利伐沙班:ESI⁺-TOF/MS 测得利伐沙班的 $[M + H]^+$ 和 $[M + 2 + H]^+$ 准确质量分别为 436.070 8 和 438.068 5, 两峰高比约为 3:1, 与离子式 $[C_{19}H_{19}ClN_3O_5S]^+$ 相应。其 MS/MS 主要特征碎片离子 m/z 318、237、231、205 和 145 与利伐沙班的结构相

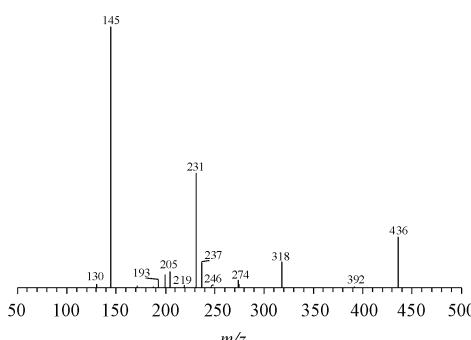
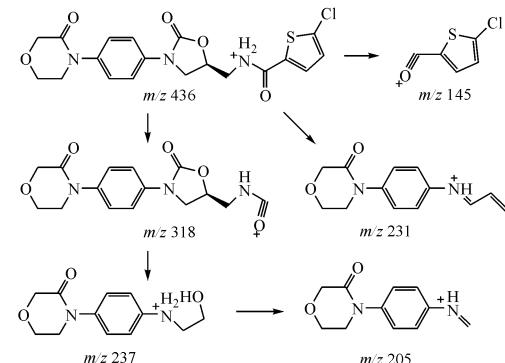


Figure 3 MS/MS spectrum of rivaroxaban $[M + H]^+$ (m/z 436) ion and its fragmentation pathway

3.2.1 强酸破坏有关物质结构鉴定 利伐沙班对强酸不稳定,酸性条件下加热破坏 2.5 h,产生 2 个明显降解有关物质(有关物质 11 和 15),有关物质 11 为主要降解产物。

有关物质 11:ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 11 的 $[M + H]^+$ 和 $[M + 2 + H]^+$ 准确质量分别为 454.085 8 和 456.083 4, 两峰高比约为 3:1, 与离子式 $[C_{19}H_{21}ClN_3O_6S]^+$ 相应; 其相对分子质量为 453, 比利伐沙班相对分子质量多 18, 与增加一分子水相应。MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z 408、378、264、249、223、209 和 145, 其中 m/z 249 和 223 均比利伐沙班相应特征碎片离子 m/z 231 和 205 多 18, 与氧代吗啉基的酰胺键水解成羧酸相应; m/z 145 与噻吩甲酰离子结构相应。该降解产物与利伐沙班相比保留较弱, 极性较大。确证有关物质 11 为利伐沙班氧代吗啉中的酰胺基团水解成羧酸

应。 m/z 318 与氧代吗啉-苯基-噁唑啉甲酰胺离子单元相应, 该离子单元逐级裂解得到 m/z 237、231 和 205 离子; m/z 145 与噻吩甲酰离子结构相应。利伐沙班的二级质谱分析(图 3)对于解析确证其有关物质的结构具有参考意义。



的产物(图 4)。

有关物质 15:ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 15 的 $[M + H]^+$ 和 $[M + 2 + H]^+$ 准确质量分别为 162.961 8 和 164.959 2, 两峰高比约为 3:1, 与离子式 $[C_5H_4ClO_2S]^+$ 相应; MS/MS 特征碎片离子 m/z 119 ($[M - CO_2]^+$) 和 81 ($[M - HCl - CO_2]^+$) 以及色谱保留时间(t_R 约 25.3 min)均与有关物质 G 对照品一致。结合合成工艺^[11-13], 确证有关物质 15 为利伐沙班的 5-氯噻吩-2-甲酰胺单元的甲酰胺键水解产物。

3.2.2 强碱破坏有关物质结构鉴定 利伐沙班对强碱很不稳定, 碱性条件下加热破坏 2 min, 即产生 5 个明显有关物质(有关物质 1、3、4、7 和 12), 有关物质 12 为主要降解产物。

有关物质 12:ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 12 的 $[M + H]^+$ 和 $[M + 2 + H]^+$ 准确质量分别为

410.095 5 和 412.092 9, 两峰高比约为 3:1, 与离子式 $[C_{18}H_{21}ClN_3O_4S]^+$ 相应; 其相对分子质量为 409, 与利伐沙班的相对分子质量 435 相比少 26, 元素组成少 1 个羰基 (C=O), 多 2 个 H, 与𫫇唑啉基团水解相应。MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z

392、231、218 和 145, 分别与利伐沙班的𫫇唑啉基团水解物 $[M + H]^+$ 离子的脱水、脱水后再裂解形成烯丙氨基苯基氧代吗啉、脱去氧代吗啉苯胺和噻吩甲酰的离子相应。确证有关物质 12 为利伐沙班的𫫇唑啉基团水解脱去羰基的产物 (图 5)。

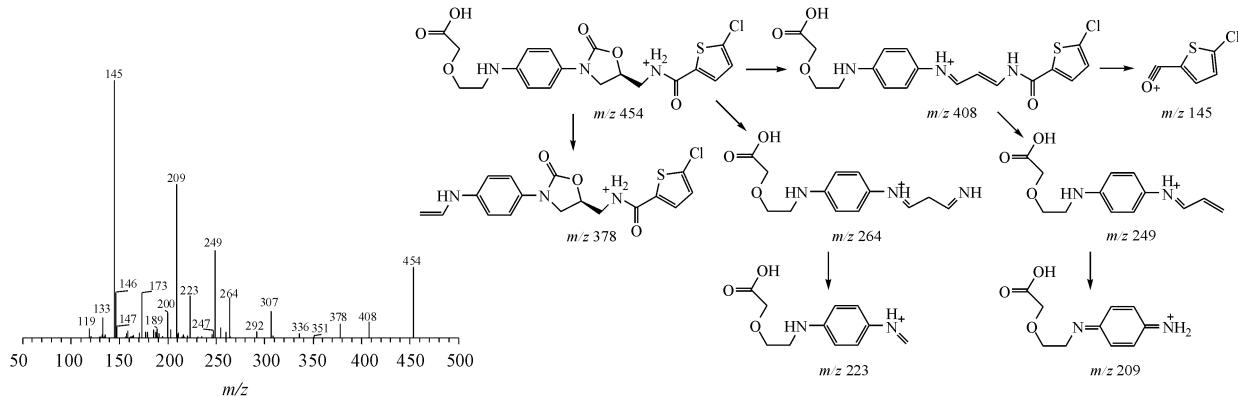


Figure 4 MS/MS spectrum of impurity 11 $[M + H]^+$ (m/z 454) ion and its fragmentation pathway

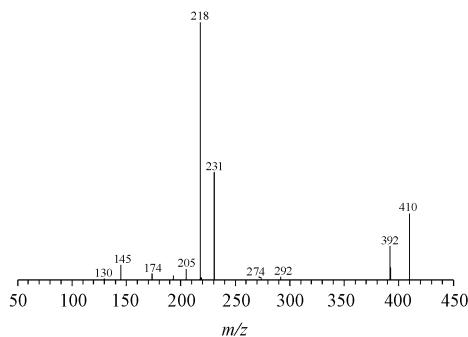


Figure 5 MS/MS spectrum of impurity 12 $[M + H]^+$ (m/z 410) ion and its fragmentation pathway

有关物质 1: ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 1 的 $[M + H]^+$ 准确质量为 211.106 2, 与离子式 $[C_{10}H_{15}N_2O_3]^+$ 相应; MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z 135、118 和 108, 并测得反相色谱保留较弱。表明

结构中存在极性基团, 确证有关物质 1 为利伐沙班的氧代吗啉苯基和氧代𫫇唑啉基同时水解形成羧酸苯胺的产物 (图 6)。

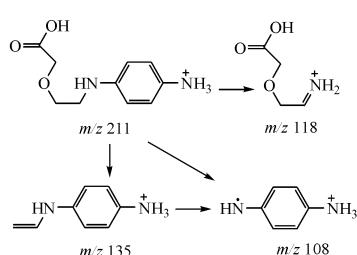
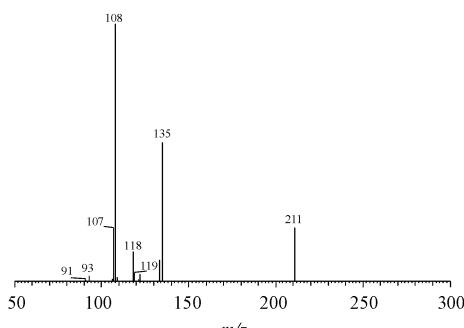


Figure 6 MS/MS spectrum of impurity 1 $[M + H]^+$ (m/z 211) ion and its fragmentation pathway

有关物质 3: ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 3 的 [M + H]⁺ 的准确质量为 292.1297, 与离子式 [C₁₄H₁₈N₃O₄]⁺ 相应; MS/MS 主要特征碎片离子为 *m/z* 237、231、219、205、193 和 56, 与利伐沙班特征碎片中 5-氨基𫫇唑啉-苯基氧代吗啉单元相应; 并测得保留时间 (*t_R* = 6.5 min) 和质谱数据均与有关物质 A 对照品一致。结合合成工艺^[11-13], 确证有关物质 3 为利伐沙班的合成起始原料或甲酰胺键水解的产物。

有关物质 4:ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 4 的

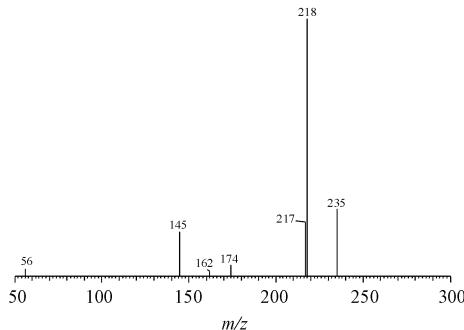
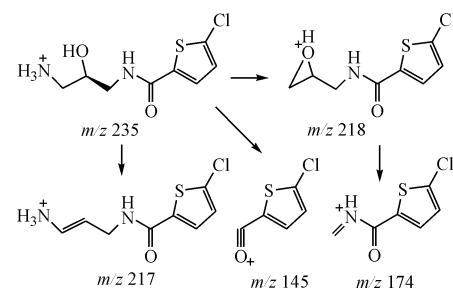


Figure 7 MS/MS spectrum of impurity 4 $[M + H]^+$ (m/z 235) ion and its fragmentation pathway

有关物质 7: ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 7 的 $[M + H]^+$ 和 $[M + 2 + H]^+$ 准确质量分别为 428.1056 和 430.1036, 两峰高比约为 3:1, 与离子式 $[C_{18}H_{23}ClN_3O_5S]^+$ 相应。相对分子质量为 427, 与有关物质 12 的相对分子质量 409 相比多 18, 与增

[M + H]⁺ 和 [M + 2 + H]⁺ 的准确质量分别为 235.033 4 和 237.026 9, 两峰高比约为 3:1, 与离子式 [C₈H₁₂ClN₂O₂S]⁺ 相应; MS/MS 主要特征碎片离子为 *m/z* 218、217、174 和 145, 均与利伐沙班中氧代𫫇唑啉基开环水解产物有关物质 12 的主要特征碎片一致, 表明有关物质 4 结构中含有 *N*-(氨基羟基丙基) 嘧吩甲酰胺的结构片段。确证有关物质 4 为有关物质 12 进一步水解脱去氧代吗啉基苯基的产物(图 7)。



加一分子水相应, MS/MS 主要特征碎片离子 m/z 410、325、249、218、210 和 209, 均与有关物质 12 的 3-氧代吗啉的酰胺进一步开环水解产物相应。确证有关物质 7 为利伐沙班中 2-氧代𫫇唑啉和 3-氧代吗啉单元酰胺同时开环水解的产物(图 8)。

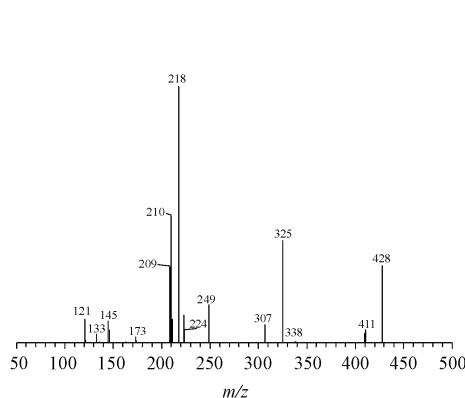
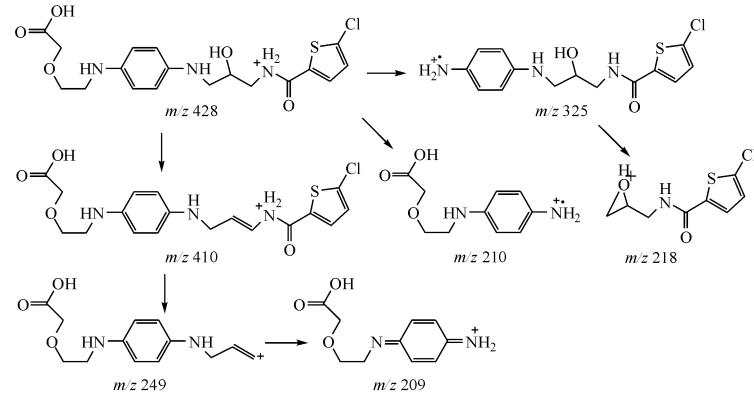


Figure 8 MS/MS spectrum of impurity 7[M + H]⁺ (m/z 428) ion and its fragmentation pathway

3.2.3 氧化破坏有关物质结构鉴定 利伐沙班对氧化剂不稳定,过氧化氢氧化条件下加热破坏2.5 h,产生6个明显的有关物质(有关物质2、3、4、9、14和15)。有关物质2和9为主要氧化产物。

有关物质 2-ESI⁺ TOF/MS 测得有关物质 2 的



[M + H]⁺准确质量为 292.1307, 与离子式 [C₁₄H₁₈N₃O₄]⁺相应, MS/MS 主要特征碎片离子 *m/z* 237、231、219、205、193 和 56; 这些均与有关物质 3 相同, 表明有关物质 2 和 3 为具有相似结构单元的同分异构体。有关物质 2 反相色谱保

留相对更弱,表明结构中存在更强极性基团。故确证有关物质2为有关物质3中2-氧代噁唑啉的

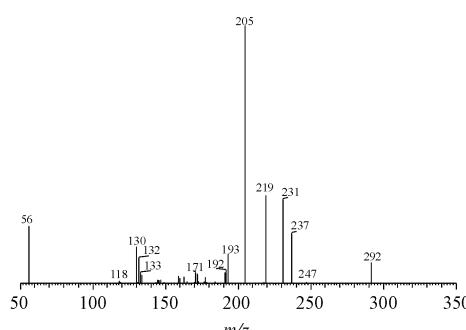


Figure 9 MS/MS spectrum of impurity 2 $[M + H]^{+}$ (m/z 292) ion and its fragmentation pathway

有关物质9:ESI⁺-TOF/MS测得有关物质9的 $[M + H]^{+}$ 和 $[M + 2 + H]^{+}$ 准确质量分别为261.010 7和263.009 6,两峰高比约为3:1,与离子式 $[C_9H_{10}ClN_2O_3S]^{+}$ 相应;其相对分子质量为260,比有关物质4相对分子质量多26,与氧代噁

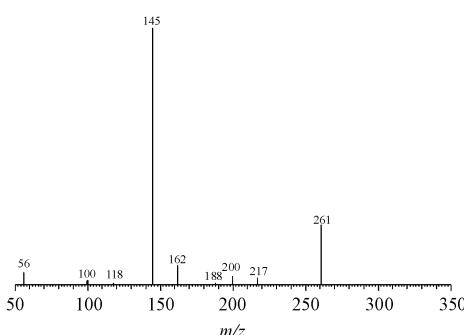


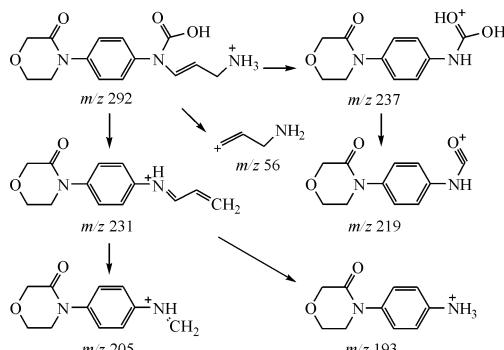
Figure 10 MS/MS spectrum of impurity 9 $[M + H]^{+}$ (m/z 261) ion and its fragmentation pathway

有关物质14:ESI⁺-TOF/MS测得有关物质14的 $[M + H]^{+}$ 和 $[M + 2 + H]^{+}$ 准确质量分别为468.064 3和470.062 8,两峰高比约为3:1,与离子式 $[C_{19}H_{19}ClN_3O_3S]^{+}$ 相应,其相对分子质量为467,比利伐沙班相对分子质量多32,与两个氧原子相应;故有关物质14为利伐沙班的二氧化物。根据MS/MS主要特征碎片离子 m/z 451、434、423、406、273和261所对应的结构,确证有关物质14为利伐沙班酰胺氮原子的氧化产物(图11)。

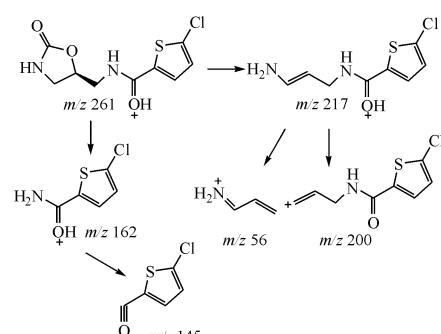
4 讨 论

结合利伐沙班的合成工艺^[11-13]、强制降解试验以及有关物质对照品比对,研究鉴定出了利伐沙

内酯键经氧化水解成羧酸又羟基脱水形成双键的产物(图9)。



唑啉基未开环水解的结构相应;MS/MS主要特征碎片离子为 m/z 217、200、162、145和56,与 N -(氧代噁唑啉甲基)噻吩甲酰胺结构单元相对应。确证有关物质9为利伐沙班氧化脱去氧代吗啉基苯基的产物(图10)。



班的15个有关物质。根据鉴定结果,利伐沙班的有关物质可分为3类:合成起始原料或由起始原料引入的有关物质(有关物质3、13和15)、合成副产物(有关物质5、6、8和10)和降解产物(有关物质1~4、7、9、11、12、14和15)。

强制降解试验表明,利伐沙班对高温和光照相对稳定,对酸、碱和氧化剂相对较不稳定。酸、碱和氧化破坏条件下,利伐沙班的氧代吗啉基和氧代噁唑啉基中的酰胺键均易水解,产生极性较大的多个有关物质。氧化破坏条件下氧代吗啉基和甲酰胺基的氮原子易氧化生成 N -氧化物。有关物质3和15既是合成起始原料,也是降解产物。

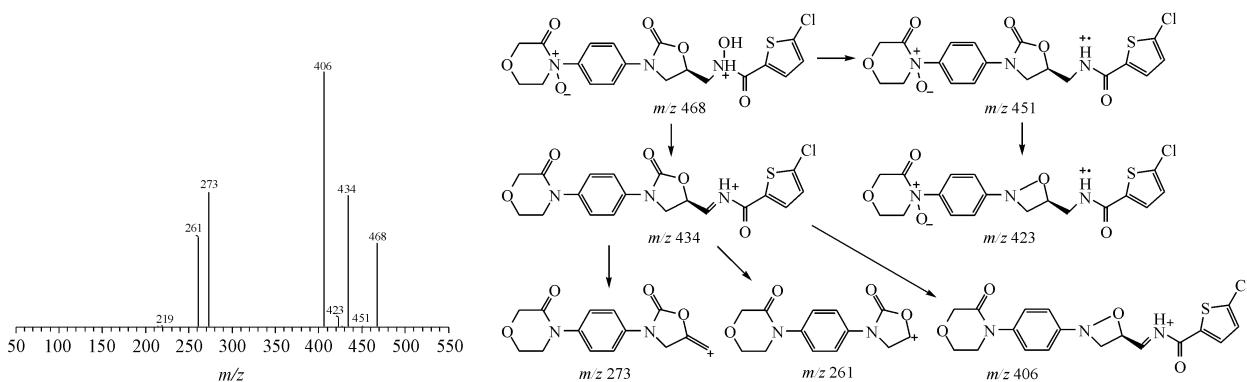


Figure 11 MS/MS spectrum of impurity 14 $[M + H]^{+}$ (m/z 468) ion and its fragmentation pathway

利伐沙班片供试品中各有关物质含量均未超过0.1%，强制降解产生的有关物质在利伐沙班片中均未检出，表明在适宜的条件下存储，其质量和稳定性良好。

参考文献

- [1] Samama MM. The mechanism of action of rivaroxaban—an oral, direct factor Xa inhibitor—compared with other anticoagulants [J]. *Thromb Res*, 2011, **127** (6): 497–504.
- [2] Terry C, Sum L. Rivaroxaban: an oral direct factor Xa inhibitor for the prevention of thromboembolism [J]. *Cardiol Rev*, 2009, **17** (4): 192–197.
- [3] Thomas TF, Ganetsky V, Spinler SA. Rivaroxaban: an oral factor Xa inhibitor [J]. *Clin Ther*, 2013, **35** (1): 4–27.
- [4] Çelebier M, Reçber T, Koçak E, et al. RP-HPLC method development and validation for estimation of rivaroxaban in pharmaceutical dosage forms [J]. *Braz J Pharm Sci*, 2013, **49** (2): 359–366.
- [5] Kasad PA. Photolytic-thermal degradation study and method development of rivaroxaban by RP-HPLC [J]. *Int J Pharm Tech Res*, 2013, **5** (3): 1254–1263.
- [6] Rohde G. Determination of rivaroxabana novel, oral, direct factor Xa inhibitor—in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2008, **872** (1/2): 43–50.
- [7] Korostelev M, Bihani K, Ferreol L, et al. Simultaneous determination of rivaroxaban and dabigatran levels in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, **100**: 230–235.
- [8] Ramisetti NR, Kuntamukkala R. Development and validation of a stability indicating LC-PDA-MS/MS method for separation, identification and characterization of process related and stress degradation products of rivaroxaban [J]. *RSC Adv*, 2014, **4** (44): 23155–23167.
- [9] Xu J, Hu WH, Gu DF, et al. Identification and determination of related substances in atropine sulfate with hyphenated technique [J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2014, **45** (4): 438–443.
- [10] Jin C, Wang M, Na Q, et al. Identification of chromatographic-mass spectrometric structures of related substances in terazosin hydrochloride [J]. *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)*, 2014, **34** (11): 107–117.
- [11] Yuan J, Huang CJ, Zhang JW, et al. Synthesis of rivaroxaban [J]. *Chin J New Drugs(中国新药杂志)*, 2010, **19** (23): 2185–2187.
- [12] Gao Y, Liang B, Ni GW, et al. Graphical synthetic routes of rivaroxaban [J]. *Chin J New Drugs(中国新药杂志)*, 2012, **21** (4): 371–374.
- [13] Cai ZY, Wen YL, Zhang SL, et al. Preparation and structural confirmation of the related substances of rivaroxaban [J]. *Chin J Pharm(中国医药工业杂志)*, 2014, **45** (4): 303–307.