

利伐沙班片溶出曲线方法建立及与原研溶出曲线相似性比较的研究

陈小晖 周向荣 曾环想

国药集团致君(深圳)制药有限公司

DOI:10.32629/bmtr.v8i3.20480

[摘要] 目的：建立适用于利伐沙班片的体外溶出曲线检测方法，系统评估其溶出行为。方法：优化溶出装置、介质及取样时间；采用高效液相色谱法测定溶出量；借助 f_2 相似因子进行曲线相似性分析。结果：本方法重复性良好；自研样品在四种溶出介质中的溶出曲线与原研品高度一致。结论：所建方法可为利伐沙班片的质量一致性评价提供可靠依据。

[关键词] 利伐沙班片；体外溶出曲线；高效液相色谱法； f_2 相似因子法

中图分类号：R927.2 文献标识码：A

Study on the Establishment of Dissolution Curve Method for Rivaroxaban Tablets and Comparison of Its Similarity with the Original Dissolution Curve

Xiaohui Chen, Xiangrong Zhou, Huanxiang Zeng

Sinopharm Zhijun (Shenzhen) Pharmaceutical Co., Ltd.

[Abstract] Objective: To establish an in vitro dissolution curve testing method suitable for rivaroxaban tablets and systematically evaluate their dissolution behavior. Methods: The dissolution apparatus, media, and sampling time points were optimized; the amount dissolved was determined by high-performance liquid chromatography; and curve similarity analysis was performed using the f_2 similarity factor. Results: The developed method showed good repeatability; the dissolution curves of the self-developed tablets in four different media were highly consistent with those of the reference product. Conclusion: The established method can provide a reliable basis for the quality consistency evaluation of rivaroxaban tablets.

[Key words] Rivaroxaban tablets; In vitro dissolution curve; High-performance liquid chromatography; f_2 similarity factor method

引言

利伐沙班是全球首款可直接口服的 Xa 因子拮抗剂，在血栓栓塞性疾病的防治中具有重要临床价值。该药最早由拜耳/强生联合开发，2008 年率先在加拿大及欧盟获批上市，目前已广泛用于髌/膝关节置换术后深静脉血栓与肺栓塞的预防、非瓣膜性房颤患者的卒中预防，以及冠状动脉综合征的二级预防等^[1-6]。

利伐沙班能高选择性地竞争性抑制游离态与结合态 Xa 因子，同时对凝血酶原活性有一定影响，但不直接作用于血小板聚集。其临床优势包括：口服生物利用度高、适应症广、量效关系稳定、出血风险低。因治疗窗宽，无需常规凝血监测，满足了临床简化术后抗凝管理的需求。该药主要用于防治静脉血栓栓塞症，具体适应症为：预防髌/膝关节置换术后深静脉血栓 (DVT) 及肺栓塞 (PE)；预防非瓣膜性房颤患者的卒中与非中枢神经系统性栓塞；以及降低冠状动脉综合

征复发风险。

体外溶出度测试是评价口服固体制剂内在品质的关键指标之一，可较好地反映药物在体内的释放行为，对提升生物等效性试验的通过率具有积极作用^[7-9]。目前，针对利伐沙班片的体外溶出研究受到广泛关注，建立科学合理的溶出曲线测定方法对保证其质量一致性至关重要^[10-12]。本研究旨在建立利伐沙班片体外溶出曲线的测定方法，并对其溶出行为进行深入探究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

溶出度测试采用天大天发 RC806 溶出仪及同品牌 ZKT-18F 型真空脱气机 (天津市天大天发科技有限公司)。称量设备选用梅特勒-托利多 AB265-S 型十万分之一电子天平和 AL204 型万分之一电子天平 (均购自梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司)。色谱分析使用沃特世 2695-2998 型

高效液相色谱仪（美国沃特世公司）。

1.2 试剂

磷酸氢二钾、乙腈（色谱纯，瑞杰特）、醋酸钠、冰醋酸、盐酸（分析纯、广州化学试剂厂）、十二烷基硫酸钠(SDS)、磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钠、利伐沙班对照品（上海医药工业研究院、批号 LZ140401）、利伐沙班片（原研片剂、Bayer Schering Pharma AG、批号 BXG9601）、利伐沙班片（某企业，批号 20XX0601，20XX0602,20XX0603，每片 10mg）。

2 方法与结果

2.1 溶出测定方法的建立

根据《普通口服固体剂溶出度试验技术指导原则》及利伐沙班片进口质量标准 JX20190093，在预实验的基础上初步建立溶出测定方法，具体如下。

2.1.1 对照品溶液的配制

取利伐沙班对照品约 11mg，精密称定后转移至 100mL 容量瓶中，加入乙腈，超声处理 10 分钟使其完全溶解，再用乙腈定容至刻度，充分摇匀。精密移取上述溶液 1mL，置于 10mL 容量瓶中，加入溶出介质稀释至刻度，摇匀，即得对照品溶液。

2.1.2 溶出介质的选择

为确保溶出行为研究的科学性，本研究依据《中国药典》2025 版二部及相关进口注册标准，选取四种典型溶出介质：0.1mol/L 盐酸、pH 4.5 醋酸盐缓冲液（含 10% SDS）、pH 6.8 磷酸盐缓冲液及纯化水。其中，含 SDS 的 pH 4.5 介质旨在模拟更具临床相关性的体内环境。

2.1.3 溶出装置的选择

参照《中国药典》2025 年版四部通则 0931 溶出度与释放度测定法，在上述溶出条件基础上，我们对比了桨法（75 rpm）与篮法（75 rpm）对原研及自研制剂溶出行为的影响。结果显示，桨法的 f_2 因子为 50.2，篮法为 41.9。尽管篮法区分力更强，但其溶出变异系数较大；结合片剂溶出检查常规，最终选择桨法作为溶出装置。

2.1.4 溶出转数的选择

对原研药品与自研药品在桨法 75 转/min 与桨法 50 转/min 时的溶出行为进行考察后发现，50 转时的最终溶出结果不如 75 转。为确保溶出度测定能够准确反映药物的溶出特性，综合考虑后选用 75 转/min 为最佳转速。转速的选择会影响药物与溶出介质的接触和扩散速率，进而影响溶出效果。75 转/min 的转速既能保证药物在溶出介质中充分分散和溶解，又能避免因转速过快导致溶出行为异常，使溶出曲线更能真实地反映药物的内在质量。

2.1.5 检测波长等方法的确定

参照利伐沙班片进口质量标准 JX20190093 中溶出度及含量方法，照高效液相色谱法（利伐沙班片进口质量标准 JX20190093）色谱条件如下：色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相由乙腈与 0.01 mol/L 磷酸氢二钾溶液按 40:60 的体积比混合而成；检测波长设定为 250 nm；流速控制在 1.0 mL/min；柱温保持在 30℃。分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μ L，注入高效液相色谱仪中进行分析。采用外标法，依据各时间点测得的峰面积，计算每片中利伐沙班的累积溶出量。

综上所述，1、溶出方法条件是桨法；转速为 75 转/分；温度：37 \pm 0.5℃；溶出介质分别为 0.1mol/L 的盐酸溶液、pH=4.5 的醋酸盐缓冲液+10%SDS 溶液、pH=6.8 的磷酸盐缓冲液和纯化水，取样时间为 5、10、15、30、45min。2、采用 C₁₈ 为填充剂；乙腈：0.01mol/L 磷酸氢二钾溶液（40:60）作为流动相；检测波长 250nm；流速为 1.0mL/min；柱温为 30℃。进样 10 μ L，按外标法计算利伐沙班的溶出量。

2.2 方法学验证

2.2.1 线性关系

精密称取利伐沙班对照品约 10 mg，用流动相溶解并稀释至 0.2mg/mL，作为储备液。用储备液配制成浓度为 0.000005 mg/mL、0.001 mg/mL、0.05 mg/mL、0.075 mg/mL、0.1 mg/mL、0.3 mg/mL、0.5 mg/mL 的系列标准溶液。设置波长为 250 nm，以浓度（ μ g/mL）为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。所得回归方程为 $y = 3E+07x + 47485$ ，相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。结果表明，利伐沙班在 0.005 μ g/mL~0.5 mg/mL 浓度范围内线性关系良好。

2.2.2 重复性试验

配制对照品溶液与供试品溶液，按“2.1.5”项下色谱条件，分别连续进样 6 次，记录各次峰面积。由表 1 数据可知，对照品峰面积的 RSD 为 0.99%，供试品峰面积的 RSD 为 0.66%，均小于 2.0%，表明本方法的重复性符合要求。

表 1 利伐沙班片（10mg）重复性实验结果

测定次数	1	2	3	4	5	6
对照品峰面积	36538 5	36011 3	36846 3	36931 9	36919 1	36884 5
RSD %	0.99					
供试品峰面积	33418 6	33821 3	33452 2	33795 7	33833 7	33960 0
RSD %	0.66					

2.2.3 中间精密度试验

为评估本方法在不同实验条件下的重现性，考察了日期、

分析人员及仪器三个因素的变动对测定结果的影响。取同一批利伐沙班片样品,由实验者A在第一天使用仪器A按照既定方法进行含量测定;次日,由实验者B使用仪器B对同批样品再次测定。两次测定的溶出度结果及相对标准偏差(RSD)汇总于表2。结果显示,10 mg与5 mg规格样品的RSD分别为1.2%和1.4%,均未超过2.0%,表明不同时间、不同操作者及不同仪器对测定结果的影响较小,本方法的中间精密度符合要求。

表2 利伐沙班片(10mg)中间精密度实验结果

日期	10mg		5mg	
	第1天	第2天	第1天	第2天
仪器	A	B	A	B
操作者	A	B	A	B
溶出度%	91.8	92.3	91.7	90.7
RSD%	1.2		1.4	

2.2.4 回收率试验

精密称取利伐沙班对照品约11 mg及空白辅料约8 mg,置于100 mL容量瓶中,加流动相50 mL超声溶解,放冷后加流动相稀释至刻度,摇匀,过滤。精密移取上述滤液各4 mL、5 mL、6 mL,置50 mL量瓶中,加溶出介质稀释至刻度,摇匀,配制相当于溶出度80%、100%、120%的三种浓度溶液,每种浓度平行配制3份。按高效液相色谱法测定,计算回收率,结果见表3。9份样品的平均回收率为100.4%,RSD为0.59%,各浓度点回收率均大于99%,表明本法准确度良好。

表3 利伐沙班片(10mg)回收率实验结果

含量	称样量(mg)	辅料(mg)	测出量(mg)	回收率%	平均回收率%	RSD%
低浓度80%	8.38	161.4	8.46	100.9	100.4	0.59
	8.57	160.8	8.56	99.8		
	8.32	162.6	8.38	100.8		
中浓度100%	10.29	202.3	10.38	100.8		
	10.40	201.1	10.45	100.4		
	10.47	203.5	10.49	100.2		
高浓度120%	12.74	240.1	12.69	99.7		
	12.64	240.4	12.79	101.2		
	12.62	242.9	12.57	99.6		

2.2.5 溶液稳定性

取溶出测定项下供试品溶液,分别于0、1、2、4、6、8、10、12小时进样测定,照高效液相色谱法进行检测。由结果可知,RSD在1%之内。表明利伐沙班样品溶液在常温条件下,12小时以内稳定性良好。结果见表4。

表4 利伐沙班片(10mg)溶液稳定性实验结果

利伐沙班片(10mg)								
时间(h)	0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12
峰面积	27960	27896	28058	28002	27901	27728	27896	27817
变化	/	0.23	0.35	0.15	0.21	0.83	0.23	0.51

率(%)							

2.2.6 滤膜吸附试验

按溶出度测定方法取供试品溶液,用0.45 μm滤膜分别过滤1mL、2mL、3mL、4mL后进行溶出测定,结果见下表5。结果显示,采用0.45 μm膜过滤对测定影响较小,因此确定溶出度测定样品的处理方法为0.45 μm滤膜过滤。

表5 利伐沙班片(10mg)滤膜吸附性实验结果

/	原溶液	1mL	2mL	3mL	4mL	RSD%
供试溶液峰面积	164235	163057	164950	165327	164922	0.54

2.3 溶出曲线的测定与评价

2.3.1 溶出介质的配制

实验所需的四种溶出介质按如下方法分别制备:

(1) 0.2%十二烷基硫酸钠(SDS)的pH 4.5醋酸盐缓冲液:精密称取CH₃COONa·3H₂O 2.99 g,溶于1000mL纯化水中,依次加入乙酸1.66 mL及10% SDS溶液20mL,混匀后用乙酸或氢氧化钠试液调节pH至4.50±0.10。

(2) 0.1 mol/L盐酸溶液:量取浓盐酸9mL,用纯化水稀释至1000 mL,摇匀,即得。

(3) pH 6.8磷酸盐缓冲液:分别称取磷酸二氢钾1.7 g与无水磷酸氢二钠1.775 g,加水溶解并稀释至1000 mL。

(4) 纯化水:直接作为溶出介质使用。

2.3.2 不同介质中溶出曲线的测定与评价

取自制与原研利伐沙班片各12片,分别于四种介质(含0.2% SDS的pH 4.5醋酸盐缓冲液、0.1 mol/L盐酸、pH 6.8磷酸盐缓冲液、纯化水,各900 mL)中测定溶出。溶出仪参数:桨法75 r/min,37±0.5℃。于5、10、15、30、45 min取样5 mL,0.45 μm滤膜过滤,续滤液为供试品溶液;每次取样后补加等温等量介质。对照品溶液按“2.1.1”项制备。

计算每片各时间点的累积溶出百分率,绘制溶出曲线(见图1~图4),并计算各介质下的f₂相似因子(结果汇总于表6)。

相似因子(f₂)判定标准:参照FDA与EMA的相关规定,当受试制剂与参比制剂溶出曲线的f₂值≥50时,可认为两者溶出行为一致。

结果分析:在含0.2% SDS的pH 4.5醋酸盐缓冲液中,自研与原研制剂在15 min内的累积溶出率均超过85%,判定为相似。在其他三种介质(0.1 mol/L盐酸、纯化水、pH 6.8磷酸盐缓冲液)中,两者的溶出行为亦表现出良好的一致性,各条件下的f₂因子均大于50。

$$F_2 = 50 \log \sqrt{1 + \frac{\sum_{i=1}^n (R_t - T_t)^2}{n}}$$

其中参数 n 是取样时间点 (n ≥ 3)；R_t 为参比制剂溶出度/释放度平均百分数；T_t 为试验药物溶出度/释放度平均百分数。

①溶出介质-pH4.5 醋酸盐缓冲液+0.2%十二烷基硫酸钠，溶出曲线结果见图 1。

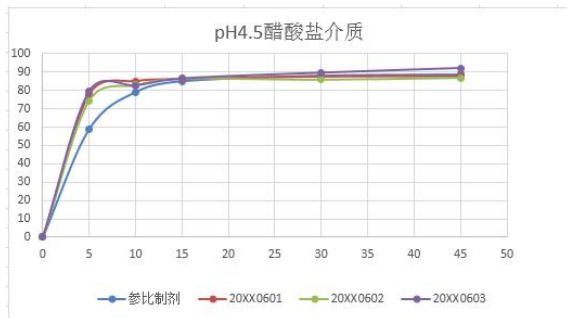


图 1 利伐沙班片溶出曲线 (介质-pH4.5 醋酸盐缓冲液)

②溶出介质-0.1mol/L 盐酸，溶出曲线结果见图 2。

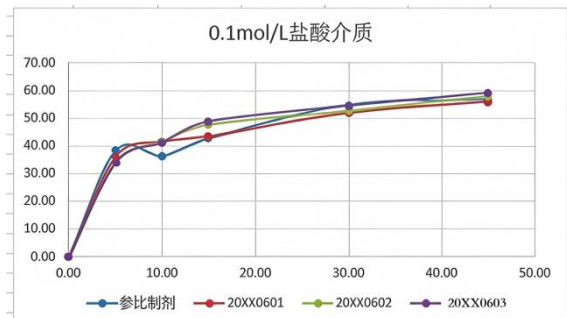


图 2 利伐沙班片溶出曲线 (介质-0.1mol/L 盐酸)

③溶出介质-纯化水，溶出曲线结果见图 3。

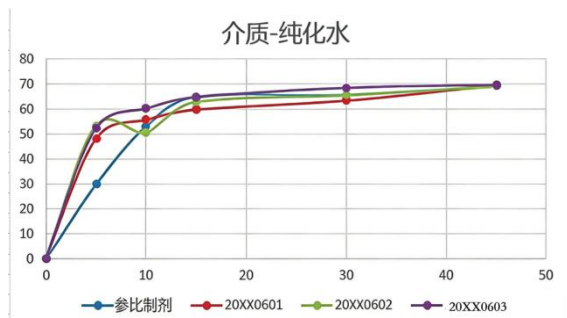


图 3 利伐沙班片溶出曲线 (介质-纯化水)

④溶出介质-pH6.8 磷酸盐缓冲液，溶出曲线结果见图 4。

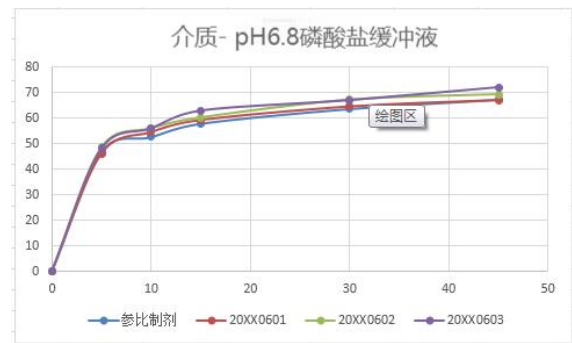


图 4 利伐沙班片溶出曲线 (介质-pH6.8 磷酸盐缓冲液)

表 6 不同介质中 f₂ 因子 (n=12)

不同介质	f ₂ 因子		
	20XX0601	20XX0602	20XX0603
pH4.5+0.2%SDS	54.4	58.7	52.8
0.1mol/L 盐酸	77.8	71.6	70.7
水介质	54.8	50.5	50.6
pH6.8 介质	79.5	69.6	67.1

结果分析：溶出曲线拟合试验结果表明，利伐沙班片 (10mg) 与市售品 (拜瑞妥 10mg) 的 4 条溶出曲线拟合，f₂ 因子均大于 50，表明由我司自制的利伐沙班片 (10mg) 溶出行为与市售品相似。

利伐沙班片 (规格 10mg) 与市售品 (拜瑞妥 10mg) 的 4 条溶出曲线拟合，f₂ 因子均大于 50，表明由我司自制的利伐沙班片 (规格 10mg) 溶出行为与市售参比制一致。

3 结论

本研究建立了一种适用于利伐沙班片溶出曲线测定的 HPLC 方法。方法学验证结果表明，该方法线性良好、重复性高、准确可靠、操作便捷，可有效保障原始数据的完整性。与原研品 (拜瑞妥) 的多介质溶出曲线比较显示，自研制剂溶出行为高度相似 (f₂ > 50)，为后续质量一致性评价与生物等效性风险控制提供了实验依据。

[参考文献]

[1]陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].17版.北京:人民卫生出版社,2011:522-523.

[2]葛均波,徐永健.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:454-456.

[3]王芳,刘治军,傅得兴.利伐沙班的临床应用进展[J].中国新药杂志,2018,27(12):1371-1376.

[4]李艳,张健.利伐沙班预防髌关节置换术后深静脉血栓形成的有效性和安全性研究[J].中华关节外科杂志(电子版),2017,11(5):583-587.

[5]孙宁玲,霍勇,王继光,等.利伐沙班用于非瓣膜性房颤患者预防脑卒中的中国专家建议[J].中华内科杂志,2015,54(8):740-746.

[6]杨新春,马长生,董建增,等.利伐沙班在急性冠状动脉综合征抗栓治疗中的应用中国专家共识[J].中华心血管病杂志,2017,45(11):911-917.

[7]国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[M].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录XC,附录XD.

[8]国家食品药品监督管理总局.普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则[S].(2015年第226号通告).

[9]谢沐风.溶出度曲线相似性的评价方法[J].中国医药工业杂志,2009,40(4):308-311.

[10]蔡挺,郑青山.药物溶出度研究进展[J].中国临床药理学杂志,2016,32(10):955-957.

[11]黄泰康.药剂学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2011:147-151.

[12]张强,尹莉芳.生物药剂学与药物动力学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2016:112-115.

作者简介:

陈小晖(1980-),女,汉族,广东惠州,本科,国药集团致君(深圳)制药有限公司,主管药师,研究方向:药物制剂研发与质量评价。