

# 抗凝药利伐沙班晶型的定量分析 与热稳定性考察

马雨璇, 王 娜, 王 冰, 李 钢

(南京师范大学食品与制药工程学院, 分析测试中心, 江苏 南京 210023)

[摘要] 本文通过 X-射线粉末衍射仪(PXRD)对利伐沙班混晶中的晶型 I 和晶型 II 进行了定性与定量分析, 利用差示扫描量热仪(DSC)结合 X 射线粉末衍射仪原位高温附件(in situ high temperature)测定了晶型 II 的热稳定性. 定量分析采用 X 射线粉末衍射  $K$  值法, 结果表明:该方法具有方便快捷, 简单实用的优点;热分析表明晶型 II 在 190 °C 左右发生相转变, 逐步转变为晶型 I.

[关键词] 利伐沙班, 定量分析, 定性分析, 热稳定性分析

[中图分类号] R927 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2021)01-0136-05

## Quantitative Analysis and Thermal Stability of the Crystal Form of Rivaroxaban as an Anticoagulant

Ma Yuxuan, Wang Na, Wang Bing, Li Gang

(School of Food and Pharmaceutical Engineering, Test & Analysis Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** In this paper, X-ray powder diffractometer (PXRD) was used to qualitatively and quantitatively analyze the crystal form I and crystal form II in the mixed crystal of Rivaroxaban. The thermal stability of crystal form II was determined by differential scanning Calorimeter (DSC) combined with X-ray powder diffractometer in situ high temperature attachment. X-ray powder diffraction  $K$  value method is used for quantitative analysis, the results show that the method is convenient, rapid, simple and practical, and the thermal analysis shows that the phase transformation of crystal form II occurs at about 190 °C and gradually changes to crystal form I.

**Key words:** Rivaroxaban, quantitative analysis, qualitative analysis, thermal stability analysis

利伐沙班的商品名为拜瑞妥, 是噁烷酮类选择性 Xa 因子抑制剂, 由德国拜耳公司和美国强生公司共同研发, 是全球第一个口服的 Xa 因子直接抑制剂的新型药物<sup>[1-3]</sup>. 主要用于预防成人患者髋关节或膝关节置换以及非瓣膜性心房颤动术后引起的血栓形成, 是抗血栓药物中目前最有前景的药物之一<sup>[4-6]</sup>. 与传统抗凝药华法林和阿哌沙班相比, 利伐沙班具有可口服、受食物和药物影响较小、给药剂量可固定、出血风险低、药效学和药代动力学活性可预测、治疗窗较宽且不需要常规医疗监护等诸多优点<sup>[7-8]</sup>, 是目前抗凝血药研究的一个热点.

对于同一药物不同晶型的研究通常借助于 X-射线粉末衍射法(PXRD)、差示扫描量热分析法(DSC), 在相关文献[9-11]中已有较多报道. 目前对利伐沙班的研究主要在药理和合成工艺方面, 对晶型的报道比较少. 从文献[12-16]可知, 利伐沙班存在多晶型, 对药物进行晶型研究在保证药物的稳定性、提高药物的生物利用度、减少毒性和增进治疗效果等方面都具有重要意义. 本实验室主要对利伐沙班多晶型进行了制备, 在制备纯晶型的过程中出现了晶型 I 和 II 的混晶. 对多晶型药物来说, 有的晶型是有效的, 有的是无效的, 有的甚至是有害的, 这就涉及到晶型定量分析的问题. 所以本文先利用 PXRD 和 DSC 对制备出的纯晶型和混晶进行定性分析, 再通过 X-射线粉末衍射法中的  $K$  值法对晶型 I 和 II (药用晶

收稿日期: 2019-12-25.

基金项目: 江苏省大型科学仪器设备共享服务平台资助项目(BZ201403).

通讯作者: 李钢, 教授, 研究方向: 药物晶型, E-mail: 40010@njnu.edu.cn

型)的混晶体系进行定量分析<sup>[17]</sup>,以晶型 I 作为杂质确定含量,结果较为准确,为药物质量控制提供保障,最后对药用品型 II 的热稳定性进行了考察。

## 1 仪器与方法

### 1.1 仪器

天津天马衡基仪器有限公司的 FA2004 型电子天平;河南太康科教器材厂的 SHB-3 型循环水式多用真空泵;日本理学公司的 D/max 2500VL/PC 型阳极转靶 X 射线衍射仪;美国 Perkin Elmer 公司的 Analysis Diamond 差示扫描量热仪。

### 1.2 材料

利伐沙班晶型 I 由南京某公司提供;利伐沙班晶型 II 及混晶由本实验室转晶制得。

### 1.3 X-射线粉末衍射法定性定量分析(PXRD)

测定条件为管压:45 kV,管流:150 mA,Cu-K $\alpha$  辐射,石墨弯晶单色器,发射狭缝(DS)=防散射狭缝(SS)=1°,接受狭缝(RS)=0.15 mm.扫描速度:10°/min(定性分析)以及 1°/min(定量分析),步长:0.02°。

### 1.4 差示扫描量热法分析(DSC)

称取样品约 2.0 mg 放入铝坩埚中密封,将坩埚放入 DSC 中进行测试,以氮气为保护气,升温速率为 10 k/min,升温范围为 30 °C~250 °C,进行 DSC 分析。

### 1.5 X-射线粉末衍射定量分析 K 值法<sup>[17]</sup>

#### 1.5.1 原理

K 值法属于一种特殊的内标法,也称为基体清洗法,具有用样少,各物相互不影响且可将偶然误差降至最低限度的优点,因此被采纳用于定量分析利伐沙班晶型 I 和 II 混晶体系中杂质晶型 I 的含量。

#### 1.5.2 基本公式

$$\frac{I_j}{I_i} = K_i^j \frac{w_j}{w_i} \quad (1)$$

当  $w_j = w_i$  时,式(1)可写为:

$$\frac{I_j}{I_i} = K_i^j \quad (2)$$

$$w_{j0} = \frac{w_j}{1 - w_i} \quad (3)$$

式中, $I_j$  为待测相  $j$  的特征衍射峰强度(通常选择最强峰,当峰有重叠时选择次强峰); $I_i$  为参比物质  $i$  的特征衍射峰强度(通常选择最强峰,当峰有重叠时选择次强峰); $w_j$  为待测相  $j$  在被测物质中的百分含量; $w_i$  为参比物质  $i$  在被测物质中的百分含量; $w_{j0}$  为待测相  $j$  在原样品中的百分含量; $K_i^j$  为待测相  $j$  对参考物质  $i$  的参比强度,又称为  $K$  值。

#### 1.5.3 方法

在进行定量分析时,首先按 1:1 比例将标样和参比物质均匀混合,经 X 射线衍射仪扫描后计算标样和参比物质的特征衍射峰强度,并代入式(2)求出  $K$  值( $K$  值为常数),然后在待测样品中加入已知比例的参比物质并混合均匀,经 X 射线衍射仪扫描后计算标样和参比物质的特征衍射峰强度,代入式(1)和(3)即可求出待测相在原样品中的百分含量。

### 1.6 热稳定性考察

X 射线粉末衍射仪(PXRD)及其原位高温附件(In situ high temperature).测定条件为管压:45 kV,管流:150 mA,Cu K $\alpha$  辐射,石墨弯晶单色器,发射狭缝(DS)=防散射狭缝(SS)=1°,接受狭缝(RS)=0.15 mm.扫描速度:10°/min,步宽:0.02°.真空条件下程序升温,测定了利伐沙班晶型在不同温度下晶型结构的变化.根据热分析的结果,设定 25 °C、60 °C、80 °C、100 °C、150 °C、170 °C、190 °C、220 °C 这 8 个温度点,每个点恒温 1 min,检测其结构变化。

2 结果与讨论

2.1 X-射线粉末衍射定性分析

对得到的样品进行 PXRD 检测(扫描速度: 10 °/min),结果如图 1 所示. 其中图 1(a)  $2\theta=8.9^\circ$ 、 $16.4^\circ$ 、 $19.4^\circ$ 、 $19.8^\circ$ 、 $21.6^\circ$ 、 $22.4^\circ$ 、 $25.5^\circ$ 和  $26.6^\circ$ 是晶型 I 的特征峰,图 1(b)  $2\theta=12.7^\circ$ 、 $18.1^\circ$ 、 $19.2^\circ$ 、 $19.9^\circ$ 、 $20.8^\circ$ 、 $21.4^\circ$ 和  $25.8^\circ$ 是晶型 II 的特征峰. 图 1(c)同时出现了晶型 I 和 II 的特征峰,由此判定此样品为晶型 I 和 II 的一个混晶,并且从峰形上看以晶型 I 的衍射峰为基础出现了晶型 II 的特征峰. 通常对混晶进行定量分析的时候,选取没有重叠的最强峰作为特征峰,由图可知  $2\theta=22.4^\circ$ 的峰可以作为杂质晶型 I 定量的特征峰.

2.2 X-射线粉末衍射定量分析 K 值法

本实验采用  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  为参比物质. 按 1:1 比例称取纯晶型 I 样品和  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  配制成混合样品,置于玛瑙研钵中,研磨 20 min 使其充分混匀,然后取混合样品粉末适量装入样品架,将粉末样品填满样品架并压平压紧,使其表面与样品架表面齐平,制 3 个待测样,然后分别以 1 °/min 进行扫描检测. 衍射图谱见图 2,取  $2\theta=35.1^\circ$ 处峰为参比物质  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  的特征峰,  $2\theta=22.4^\circ$ 处峰为晶型 I 的特征峰,并将峰面积积分强度数据代入式(1)、(2)中进行 K 值的计算,取 3 次计算结果的平均值作为 K 值. 本方法测得晶型 I 的 K 值为 1.17. 计算结果见表 1.

将未知含量的混晶样品与  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  按 2:1 比例称取,按上述方法制备 3 个待测样品,以相同实验条件进行 PXRD 检测,衍射图见图 3,将衍射峰强度数据代入式(1)和(3)即可求得未知含量混晶样品中晶型 I 的百分含量及质量. 晶型 I 在被测物质中含量为 40.37%,在原混晶样品中的含量为 60.55%. 检测结果见表 2.

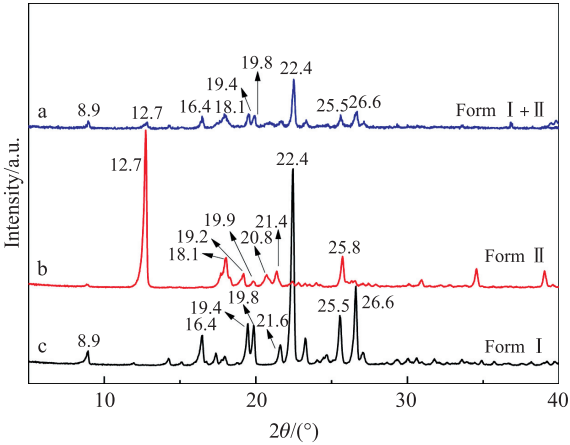


图 1 利伐沙班的 PXRD 图谱  
Fig. 1 The PXRD patterns of Rivaroxaban

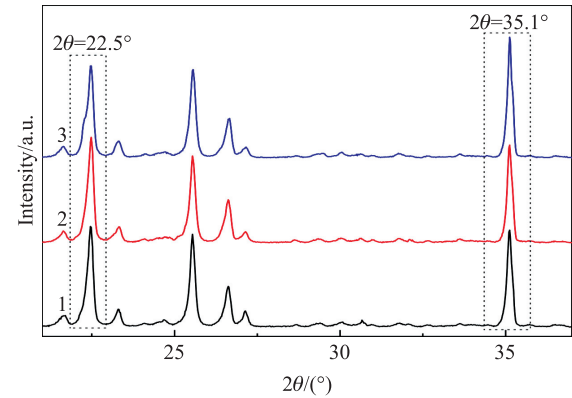


图 2  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  和利伐沙班晶型 I 混合样品的 PXRD 图谱

Fig. 2 The PXRD patterns of  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  and Rivaroxaban form I

表 1 K 值的结果

Table 1 The result of K-value

	$I_j$	$I_i$	K
1	90 517	73 916	1.22
2	92 574	73 910	1.25
3	88 203	83 905	1.04
Average	90 422.33	77 243.67	1.17

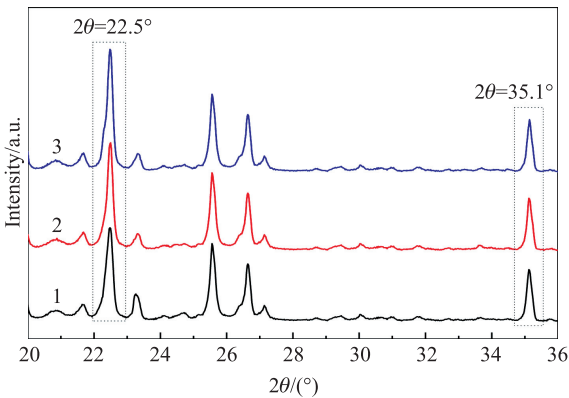


图 3  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  和利伐沙班晶型 I 含量的 PXRD 图谱

Fig. 3 The PXRD patterns of  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  and Rivaroxaban form I content

表 2 利伐沙班晶型 I 含量的结果

Table 2 The result of Rivaroxaban form I content

	$I_j$	$I_i$	$W_j$	$W_{j0}$
1	75 012	46 882	45.58%	68.38%
2	67 064	49 200	38.83%	58.25%
3	63 674	49 455	36.68%	55.02%
Average	68 583.33	48 512.33	40.37%	60.55%

为了考察  $K$  值法对利伐沙班混晶定量分析的准确性,进行了验证实验. 取上一步的试样加入纯晶型 I,使未知含量的混晶样品、 $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  和纯晶型 I 的比例为 2:1:1,研磨 20 min 使之充分混匀,制成 3 个待测样,以相同实验条件检测,衍射图见图 4,将衍射峰强度数据代入式 (1) 得到实际被测物质中晶型 I 的平均百分含量 55.17%,结果见表 3. 与理论值 55.28% 进行对比,相对偏差为 0.20%. 结果表明,本方法快速准确,简单实用,可用于工厂的大批量分析工作.

### 2.3 差示扫描量热法分析(DSC)

取样品进行 DSC 分析,结果如图 5 所示(图中标明的温度为峰顶温度,并非起始温度). 图 5(a) 晶型 I 只有一个吸热峰,测量得到熔点和热焓分别为 232.7 °C 和 117.8 J/g;图 5(b) 晶型 II 在 197.6 °C 有一个弱的放热峰,测量得到热焓为 -10.5 J/g,在 231.8 °C 有一个吸热峰,测量得到热焓为 101.7 J/g,该吸热峰与晶型 I 基本一致,推断 197.6 °C 的放热峰为晶型 II 由亚稳晶型转变为稳定的晶型 I,因此具有与晶型 I 大致相同的熔点. 图 5(c) 是混晶 I 和 II 的曲线,由此可见在 189.1 °C 有一个放热峰,热焓为 -7.5 J/g,与图 5(b) 相比降低了 8.5 °C,这是因为含有晶型 I 所导致,在 232.1 °C 有一个热焓为 112.8 J/g 的吸热峰,3 条曲线熔点峰一致,证明晶型 II 最终转变为晶型 I.

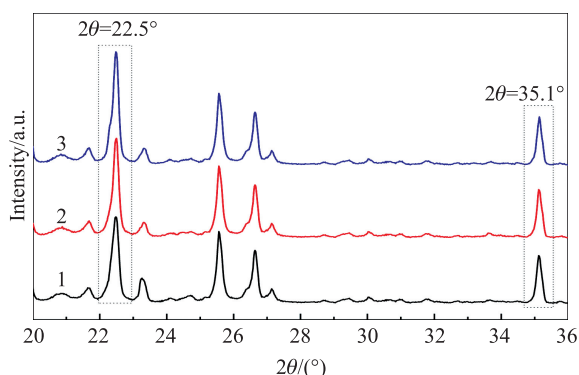


图 4 加标回收实验的 PXRD 图谱

Fig. 4 The PXRD patterns of the standard added recovery experiment

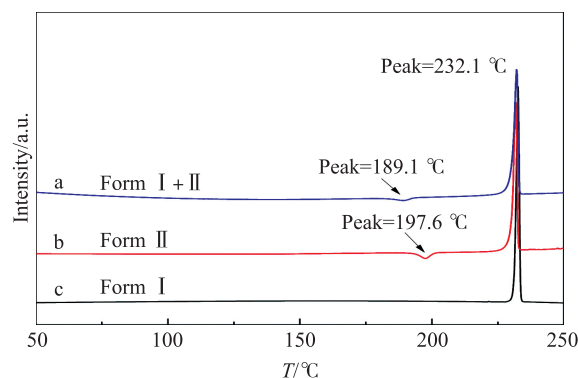


图 5 利伐沙班的 DSC 曲线

Fig. 5 DSC curve of Rivaroxaban

### 2.4 热稳定性分析

从图 6 可以看出,利伐沙班晶型 II 在 25 °C ~ 170 °C 之间晶型是稳定的,没有发生任何改变,与 DSC 分析结果相同. 在 190 °C 时,晶型 II 的两个特征峰 ( $2\theta$  为 12.7° 和 20.8°) 强度减弱,开始出现晶型 I 的特征峰 ( $2\theta$  为 8.9° 和 25.5°),并且在 22.3° 处的峰强度明显增加,整个衍射峰由纯晶型 II 变成晶型 I 和 II 的混晶. 这与图 5(b) 中晶型 II 在 190 °C 出现朝下的尖锐放热峰结果一致. 在 220 °C 时晶型 II 的特征峰完全消失,晶型 I 的特征峰强度明显变大,整个衍射峰由混晶变为纯晶型 I,这与图 5 中晶型 II 具有与晶型 I 相同的熔点结果一致.

## 3 结论

在制备纯晶型的过程中,除了本文定量分析的最常出现的晶型 I 和 II 混晶外,还有晶型 I、IV 和 I、II、IV 的混晶. 3 种混晶样品在常温放置一段时间后,都会发生晶型的转变. 晶型 I 和 II 混晶在一段时间之后,晶型 I 的衍射峰强增加,晶型 II 的峰强降低,亚

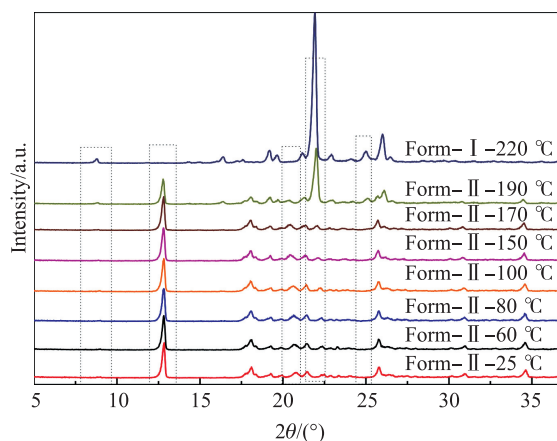


图 6 利伐沙班晶型 II 的变温图谱

Fig. 6 XRD patterns of Rivaroxaban form-II at various temperature

稳定晶型Ⅱ逐渐向稳定晶型Ⅰ转变。晶型Ⅰ和Ⅳ混晶晶型在一段时间之后,晶型Ⅳ的特征峰消失,变成了纯晶型Ⅰ。晶型Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ的混晶在一段时间后,晶型Ⅳ特征峰消失,晶型Ⅱ峰强降低,晶型Ⅰ峰强增加,变成了晶型Ⅰ和Ⅱ的混晶。所以本文只对晶型Ⅰ和Ⅱ混晶进行了定量分析。

本文20 min的研磨除了会使晶型强度降低以外,对定量分析没有影响。但是过度的研磨以及过量的研磨时间对定量分析有没有影响,需要进一步考察。

### [参考文献]

- [1] PICCINI J P, PATEL M R, MAHAFFEY K W, et al. Rivaroxaban, an oral direct factor Xa inhibitor[J]. Expert opinion on investigational drugs, 2008, 17: 925-937.
- [2] LAUX V, PERZBORN E, KUBITZA D, et al. Preclinical and clinical characteristics of rivaroxaban: a novel, oral, direct factor Xa inhibitor[J]. Seminars in thrombosis and hemostasis, 2007, 33: 515-523.
- [3] 陈怡琳, 施仲伟. 抗凝新药利伐沙班临床研究进展[J]. 心血管病学进展, 2009(5): 92-95.
- [4] 刘薇, 董金华. 利伐沙班(rivaroxaban)[J]. 中国药物化学杂志, 2011, 21(6): 508, 510.
- [5] 刘晓, 崔一民. 新型抗凝血药物——利伐沙班[J]. 中国药房, 2010(1): 89-92.
- [6] 江丽华, 黄嘉利, 陈丽华. 利伐沙班用于非瓣膜性心房颤动患者抗凝治疗的疗效及安全性[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(3): 304-305, 308.
- [7] BURNES C B, MCKEAGE K. Dabigatran etexilate[J]. Drugs, 2012, 72: 963-986.
- [8] 李庆勇, 牛锁成, 何贵生, 等. 阿哌沙班治疗非瓣膜性房颤有效性和安全性的 Meta 分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(4): 437-439.
- [9] 赵亚男, 陈小青, 朱侃, 等. 抗癌药达沙替尼的热稳定性与晶型研究[J]. 药学报, 2011, 46(9): 1104-1107.
- [10] 黄日, 王涛, 杨茜, 等. 阿奇霉素掩味干乳的表征及体内外评价[J]. 药学报, 2017, 52(5): 795-801.
- [11] 李钢, 苏国强, 徐群为. 降糖新药那格列奈的一种新晶型结构[J]. 药物分析杂志, 2001(5): 342-344.
- [12] 张国顺, 张丽, 龚宁波, 等. 利伐沙班多晶型研究[C]. 北京: 全国晶型药物研发技术学术研讨会, 2014.
- [13] XU Y, WU S P, LIU X J, et al. Crystal characterization and transformation of the forms I and II of anticoagulant drug rivaroxaban[J]. Crystal research technology, 2017, 52: 1600379.
- [14] 高晶, 滕再进, 束俭辉, 等. 固体制剂生产过程中的药物晶型转变[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(9): 1000-1005.
- [15] BAYER INTELLECTUAL PROPERTY CO., LTD. Novel polycrystalline and amorphous 5-chloro-N-(1-(5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morpholinyl)-phenyl]-1,3-oxazolidine-5-yl)-methyl-2-thiophene carboxylamides; CN, 101282968[P]. 2008-10-08.
- [16] 李大雄, 柯鸿, 樊小波, 等. 一种利伐沙班新晶型及其制备方法与用途; CN, 104211693A[P]. 2014-12-17.
- [17] 谢梦雨, 戴苏云, 沈晓敏, 等. X-射线粉末衍射 K 值法测定钴粉中  $\alpha$ -Co 的含量[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2017, 40(4): 93-97, 102.

[责任编辑: 黄 敏]