



Development and Validation of a Stability-indicating RP-HPLC Method for the Determination of Rivaroxaban in Pharmaceutical Formulations

Maurício E. WALTER², Rafaela F. PEROBELLI¹, Francielle S. DA SILVA¹,
Clóvis D.A. CARDOSO JÚNIOR², Iorhann S. da SILVA¹ & Sérgio L. DALMORA^{1*}

¹ Department of Industrial Pharmacy &

² Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences,

Federal University of Santa Maria, 97.105-900 – Santa Maria-RS, Brazil

SUMMARY. A stability-indicating reversed-phase liquid chromatography method (RP-HPLC) was validated for the analysis of rivaroxaban. The method was carried out on a C18 column (150 mm x 4.6 mm i.d.), maintained at 40 °C. The mobile phase consisted of acetonitrile and water (70:30), run isocratically at a flow rate of 0.7 mL/min, and using a photodiode array (PDA) detection at 249 nm. The separation was obtained with retention time of 2.9 min, and was linear over the concentration range of 0.04-200 µg/mL ($r^2 = 0.9992$). The specificity and stability-indicating capability of the method were proven through degradation studies. The *in vitro* cytotoxicity test of the degraded products showed significant differences ($p < 0.05$). The accuracy was 99.77% and bias lower than 1.67%. The method was applied for the analysis in human plasma and tablet dosage forms.

RESUMEN. Se validó un método de cromatografía líquida en fase inversa (RP-HPLC) con indicador de estabilidad para el análisis de rivaroxaban. El método se llevó a cabo en una columna C18 (150 x 4,6 mm d.i.), mantenida a 40 °C. La fase móvil consistió en acetonitrilo y agua (70:30), desarrollada isocráticamente a un caudal de 0,7 mL/min, usando un arreglo de fotodiodos (PDA) para la detección a 249 nm. La separación se obtuvo con un tiempo de retención de 2,9 min y fue lineal en el intervalo de concentración de 0,04 a 200 mg/mL ($r^2 = 0,9992$). La especificidad y la indicación de estabilidad del método se demostró a través de estudios de degradación. El ensayo de citotoxicidad *in vitro* de los productos degradados mostró diferencias significativas ($p < 0,05$). La precisión fue 99,77% y el sesgo inferior a 1,67%. El método se aplicó al análisis de dosificación de comprimidos en plasma humano.

KEY WORDS: cytotoxicity, reversed-phase liquid chromatography, rivaroxaban, validation.

* Author to whom correspondence should be addressed: E-mail: sdalmora@terra.com.br