

Produktinformation

YMC-Pack Pro C18

HPLC-Analyse von Clopidogrel nach JP draft-Richtlinien

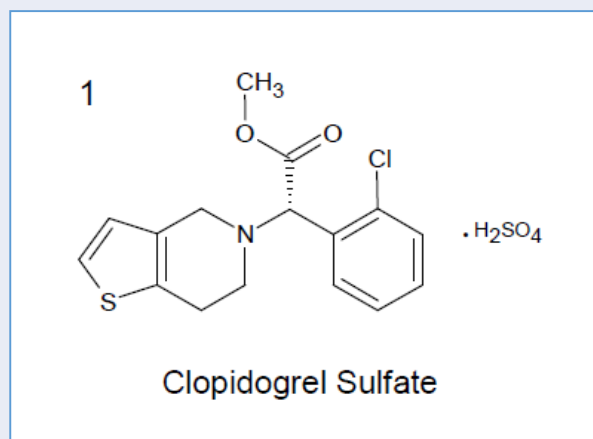
Autor: BH
Datum: 27.01.2014

Einleitung

Hinter dem Arzneimittel *Plavix* von Sanofi-Aventis verbirgt sich die Substanz Clopidogrel. Dieses Mittel hemmt die Blutgerinnung und wird zur Vorbeugung von Blutgerinnseln und damit von Herzinfarkten und Schlaganfällen eingesetzt. Weiterhin ist es unter dem Namen *Iscover* von Bristol-Myers Squibb bekannt. Während die oben genannten Firmen das entsprechende Hydrogensulfat (**1**) vertreiben, bieten andere Pharmaunternehmen das entsprechende Hydrochlorid (Hexal, Teva) oder Besilat (Ratiopharm) unter dem Internationalen Freinamen (INN) Clopidogrel an.

Clopidogrel löst sich in Wasser praktisch nur bei sauren pH-Werten (pH 1), ist jedoch löslich in Methanol. Von den beiden Enantiomeren wird nur die S-Form verwendet.

Unternehmen	Name	Inhalt
Sanofi	Plavix	Clopidogrel Sulfat
Bristol-Myers Squipp	Iscover	Clopidogrel Sulfat
Teva	Clopidogrel	Clopidogrel Hydrochlorid
Hexal	Clopidogrel HCl	Clopidogrel Hydrochlorid
Ratiopharm	Clopidogrel	Clopidogrel Besilat



Analyse

YMC hat analytische Untersuchungen von Clopidogrel nach den Vorgaben der Japanese Pharmacopoeia (draft) (JP draft) durchgeführt. Sowohl die Konzentration des Analyten, als auch die Applikationsparameter (z.B. Laufmittel, Flussrate und Temperatur) werden von der JP draft vorgegeben und wurden in den Methoden nicht verändert. Die festgelegten Kriterien für die Ergebnisse (system suitability requirements) werden im Folgenden mit den Ergebnissen der Analyse mit YMC-Pack Pro C18 verglichen.

In der ersten Analyse wurde eine 0.126 mg/mL Lösung verwendet. Die entsprechenden Analysenparameter sind neben dem Chromatogramm (siehe Seite 2) aufgeführt. Die Flussrate wird so eingestellt, dass die Retentionszeit von Clopidogrel Sulfat bei ca. 8 Minuten liegt. In der dazugehörigen Tabelle werden die Zahl der Mindestvoraussetzungen nach JP draft mit den Ergebnissen verglichen. Es wird deutlich, dass die Zahl

Produktinformation

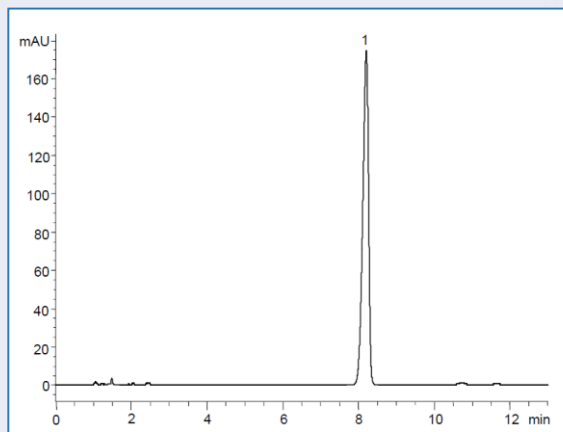
YMC
EUROPE GMBH

YMC-Pack Pro C18

HPLC-Analyse von Clopidogrel nach JP draft-Richtlinien

Autor: BH
Datum: 27.01.2014

der theoretischen Böden deutlich über der Mindestanforderung liegt. Auch die Werte für den Tailing-Faktor und die relative Standard-Abweichung der Peak-Fläche sind deutlich besser als es das JP draft vorgibt.



Standard Lösung: 0.126 mg/mL Clopidogrel Sulfat.

Säule: YMC-Pack Pro C18 (5 µm, 12 nm) 150 x 4.0 mm

Eluent: A: Wässrige Salzlösung (pH 2.5; Natriumpentasulfonat + Phosphorsäure) / Methanol (19 / 1);

B: Acetonitril / Methanol (19 / 1);

A / B (3 / 2)

Fluss Rate: 1.1 mL/min

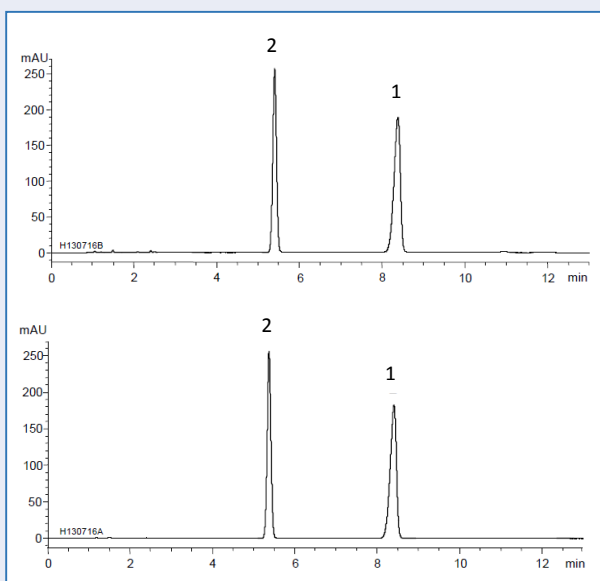
Temperatur: 30°C

Detektion: UV bei 220 nm

Injektion: 10 µL

	System suitability requirements	Ergebnis
Zahl der theoretischen Böden	≥ 4500	13900
Tailing-Faktor	≤ 2.0	0.80
Relative Standard-Abweichung der Peak-Fläche	≤ 1.0 %	0.12 %

In einer zweiten Analysen wurde Clopidogrel (einmal als Reagenz für den Laborbedarf und einmal aus Clopidogrel Tabletten) mit dem internen Standard Isopropylbenzoat (**2**) auf die HPLC-Säule injiziert. Erneut wurden alle Parameter aus der JP draft übernommen und die Ergebnisse mit den Mindestanforderungen verglichen (siehe Tabelle). Erneut zeigt die Analyse mit YMC-Pack Pro C18 sowohl für die Auflösung (13.1 ≥ 4) als auch für die relative Standard-Abweichung der Peak-Fläche (0.12 % ≤ 1.0 %) besonders gute Ergebnisse im Vergleich zu den Anforderungen.



Oben: Clopidogrel Sulfat für den Laborbedarf

Unten: Clopidogrel Sulfat Tabletten

Lösung: 0.133 mg/mL Isopropylbenzoat

0.1 mg/mL Clopidogrel Sulfat.

Säule: YMC-Pack Pro C18 (5 µm, 12 nm) 150 x 4.0 mm

Eluent: A: Wässrige Salzlösung (pH 2.5; Natriumpentasulfonat + Phosphorsäure) / Methanol (19 / 1);

B: Acetonitril / Methanol (19 / 1);

A / B (3 / 2)

Fluss Rate: 1.1 mL/min

Temperatur: 30°C

Detektion: UV bei 220 nm

Injektion: 10 µL

Produktinformation

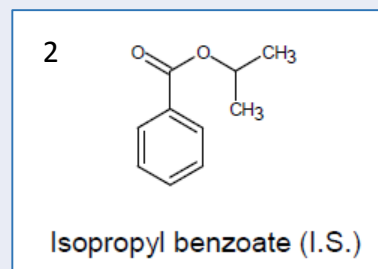
YMC
EUROPE GMBH

YMC-Pack Pro C18

HPLC-Analyse von Clopidogrel nach JP draft-Richtlinien

Autor: BH
Datum: 27.01.2014

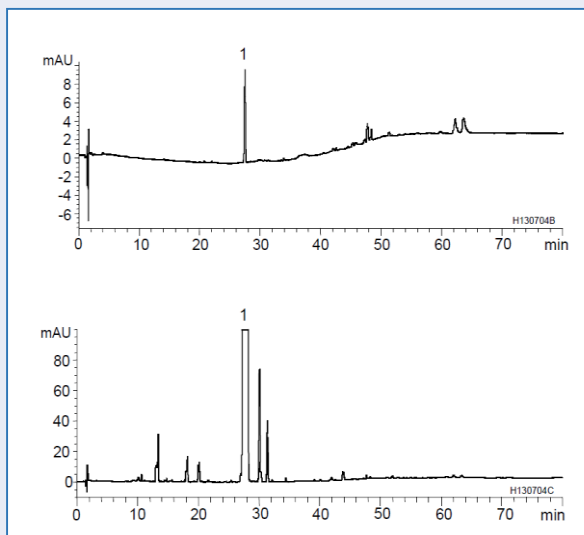
	System suitability requirements	Ergebnis
Auflösung (2,1)	≥ 4	13.1
Verhältnis der Relativen Standard-Abweichung der Peak-Fläche 2 zu 1	≤ 1.0 %	0.12 %



In einer

dritten Analyse wurden zwei

unterschiedliche Konzentrationen von Clopidogrel-sulfat injiziert und die Chromatogramme gegenüber gestellt. Die Flussmittel-Zusammensetzung ändert sich in diesem Fall von den bisherigen Methoden und es wird ein Gradient eingeführt. Die Ergebnisse in der zugehörigen Tabelle beziehen sich auf das Chromatogramm der verdünnten Probe (oben). Die Ergebnisse heben sich erneut deutlich positiv von den Anforderungen ab. Die Zahl der theoretischen Böden liegt um das 2.5-fache höher, eine optimale Peak-Symmetrie liefert einen Tailing-Faktor von 0.97 (gefordert ≤ 2) und die relative Standard Abweichung der Peak-Fläche liegt mit 0.3 % deutlich unter den geforderten 1 %. Im zweiten Chromatogramm wird deutlich wie gut die Substanz von leichten Verunreinigungen in der Probe getrennt wird.



Oben: Clopidogrel 6.5 µg/mL
Unten: Clopidogrel 6.5 mg/mL

Säule: YMC-Pack Pro C18 (5 µm, 12 nm) 150 x 4.0 mm
Eluent: A: Wässrige Salzlösung (pH 2.5; Natriumpentasulfonat + Phosphorsäure) / Methanol (19 / 1);
B: Acetonitril / Methanol (19 / 1);
10.5 % B (0-3 min), 10.5-68.5 % B (3-48 min), 68.5 % B (48-68 min)

Fluss Rate: 1.0 mL/min
Temperatur: 30°C
Detektion: UV bei 220 nm
Injektion: 10 µL

	System suitability requirements	Ergebnis
Zahl der theoretischen Böden	≥ 60000	155300
Tailing-Faktor	≤ 2.0	0.97
Relative Standard-Abweichung der Peak-Fläche	≤ 1.0 %	0.3 %

Zusammenfassung

Die ermittelten chromatographischen Daten zeigen, dass sich YMC-Pack Pro C18 sehr gut für die Analyse von Clopidogrel-sulfat eignet. Die Zahlen der theoretischen Böden liegen nicht nur im Rahmen der Vorgaben,

Produktinformation



YMC-Pack Pro C18

**HPLC-Analyse von Clopidogrel
nach JP draft-Richtlinien**

Autor: BH
Datum: 27.01.2014

sondern übertreffen diese bei weitem. Auch bezogen auf die Peak-Symmetrie (Tailing-Faktor), Präzision (Abweichung der Peak-Fläche) und die Auflösung werden besonders gute Werte erreicht.