

Produktinformation



Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

Enantioselektive Bestimmung von
 β -Blockern in menschlichem
Plasma und Speichel

Datum: 04.01.2017

Autor: Anna Bergmann

Von Applikation und Phasenscreening zu zwei Publikationen



Eine Erfolgsgeschichte mit CHIRAL ART

Produktinformation



Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

Enantioselektive Bestimmung von β -Blockern in menschlichem Plasma und Speichel

Datum: 04.01.2017
Autor: Anna Bergmann

Diese Produktinformation fasst eine Erfolgsgeschichte mit CHIRAL ART zusammen: Ausgehend von einer vorhandenen Applikation und einem Phasenscreening wurden zwei Publikationen veröffentlicht, in denen eine LC-MS Methode zur enantioselektiven Bestimmung von β -Blockern in komplexen Matrices beschrieben wird.

Mit CHIRAL ART Cellulose-SB wurden die folgenden Ziele erreicht:

- **enantioselektive Bestimmung von Propranolol und Metoprolol**
- **Basislinientrennung der beiden Enantiomere mit hoher Auflösung**
- **Bestimmung in komplexen Matrices: humanes Plasma und menschlicher Speichel**

Da die Ergebnisse in zwei Artikeln publiziert wurden, haben verschiedene Wissenschaftler die hervorragende Leistung der CHIRAL ART Säulen objektiv bestätigt!

Inhalt

1 Einführung	3
2 YMC-Applikation für Propranolol	4
3 Analyse von Propranolol-Enantiomeren in Plasmaproben	5
4 Phasenscreening und Methodenentwicklung für Metoprolol	7
5 Analyse von Metoprolol in Plasma- und Speichelproben	8
6 Zusammenfassung	10
7 Literatur	10

Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

**Enantioselektive Bestimmung von
β-Blockern in menschlichem
Plasma und Speichel**

Datum: 04.01.2017
Autor: Anna Bergmann

1 Einführung

Die **bereits bestehende YMC-Applikation** (V140131A3) für **Propranolol** mit **CHIRAL ART Cellulose-SB** wurde durch die Arbeitsgruppe von M. Abdel-Rehim für ihren Anwendungsbereich zunächst modifiziert und anschließend validiert. Die Ergebnisse wurden in einem **ersten Fachartikel** im Oktober 2015 veröffentlicht.

Im Sommer 2015, wurde zudem ein **chirales Phasenscreening** für die enantioselektive Trennung von **Metoprolol** angefragt. Dessen Ergebnis war, das (R)- und (S)-Metoprolol ebenfalls hervorragend mit CHIRAL ART Cellulose-SB getrennt werden können. Die bestehende Methode für Propranolol wurde daraufhin erfolgreich auf Metoprolol übertragen. Auf Basis dieser Daten wurde im August 2016 **ein zweiter Fachartikel** für die Bestimmung von Metoprolol in Plasma und Speichel publiziert.

Auf den folgenden Seiten wird die **Erfolgsgeschichte** mit CHIRAL ART vom Phasenscreening, durchgeführt von YMC Europe GmbH in Dinslaken, zu einer veröffentlichten Methode für die **enantioselektive Bestimmung** der beiden β-Blocker Metoprolol und Propranolol mit CHIRAL ART Cellulose-SB in **komplexen Probenmatrizes** wie menschlichem Plasma und Speichel gezeigt.

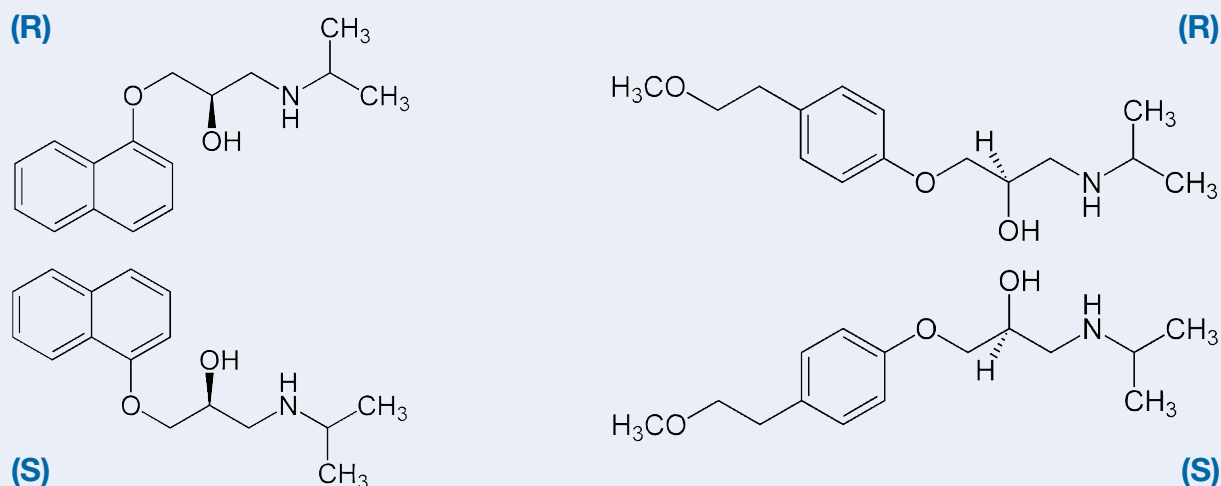


Abbildung 1: Strukturen der beiden Enantiomere von Propranolol (links) und Metoprolol (rechts)

2 YMC-Applikation für Propranolol

Basierend auf einer bestehenden Applikation (V140131A3) für Propranolol mit CHIRAL ART Cellulose-SB (Abbildung 2), begann die Arbeitsgruppe von M. Abdel-Rehim mit der Entwicklung einer LC-MS Methode für die enantioselektive Bestimmung von Propranolol.

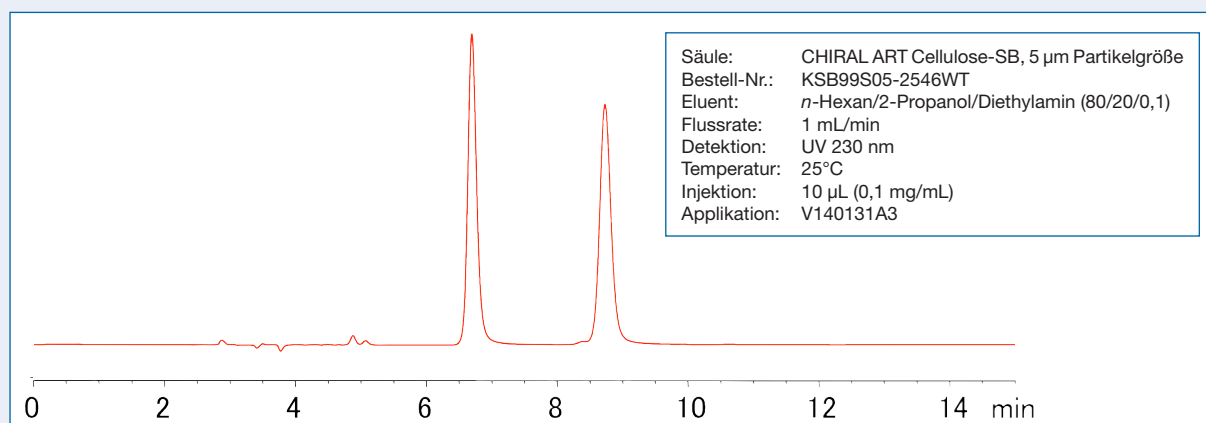


Abbildung 2: Enantioselektive Bestimmung von Propranolol mit CHIRAL ART Cellulose-SB

Mit der Applikation als Grundlage, nutzten H. Elmongy et al. CHIRAL ART Cellulose-SB für die LC-MS Trennung und Bestimmung von Propranolol-Enantiomeren in menschlichen Plasmaproben – einer sehr komplexen Matrix. Die Ergebnisse wurden in der Publikation „Online post-column solvent assisted and direct solvent-assisted electrospray ionization for chiral analysis of propranolol enantiomers in plasma samples“ [1] zusammengefasst und werden in dem nachfolgendem Kapitel dargestellt.

Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

Enantioselektive Bestimmung von β -Blockern in menschlichem Plasma und Speichel

Datum: 04.01.2017
Autor: Anna Bergmann

3 Analyse von Propranolol-Enantiomeren in Plasmaproben

Der Fachartikel "Online post-column solvent assisted and direct solvent-assisted electrospray ionization for chiral analysis of propranolol enantiomers in plasma samples", welcher im Oktober 2015 im Journal of Chromatography A [1] veröffentlicht wurde, fasst die Ergebnisse der Methodenentwicklung und Validierung für die Trennung von Propranolol-Enantiomeren in einer sehr komplexen und schwierigen Matrix zusammen: menschlichem Plasma.

Analytische Bedingungen

Tabelle 1: Analytische Bedingungen für die Trennung von Propranolol-Enantiomeren [1]

Säule	CHIRAL ART Cellulose-SB, 5 μm Partikelgröße, 150 x 4,6 mm ID
Bestell-Nr.	KSB99S05-1546WT
Mobile Phase	<i>n</i> -Hexan/Isopropanol (80/20) mit 0,1% Ammoniumhydroxid
Makeup-Lösungsmittel	0,5% Ameisensäure in Isopropanol
Flussrate	0,8 mL/min
Injektionsvolumen	50 μ L
Detektion	ESI-MS
Probenvorbereitung	Mikroextraktion beider Enantiomere mit einem gepacktem C18-Sorbens (MEPS)

Verwendung von Makeup-Lösungsmitteln

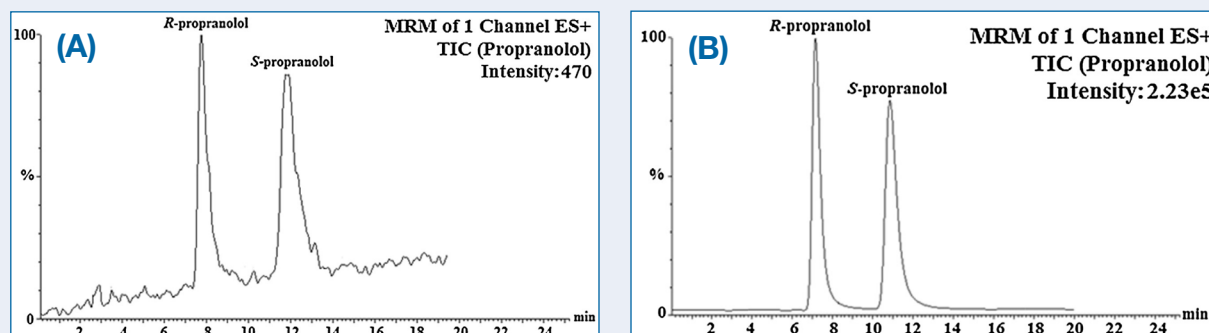


Abbildung 3: Enantioselektive Trennung von Propranolol-Standards A) ohne und B) mit Makeup-Lösungsmittel [1]

Abbildung 3 zeigt die Bedeutung der Verwendung von Makeup-Lösungsmitteln, um das chromatographische Ergebnis bei der MS-Detektion zu verbessern. Die Verwendung von Makeup-Lösungsmitteln führt zu:

- einer stabilen Basislinie
- einer verbesserten Peakform
- einer verbesserten Auflösung

Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

Enantioselektive Bestimmung von β -Blockern in menschlichem Plasma und Speichel

Datum: 04.01.2017

Autor: Anna Bergmann

Methodentransfer auf Plasmaproben

Nach der Methodenentwicklung mit Propranolol-Standards, konnte die Methode erfolgreich auf menschliche Plasmaproben übertragen werden (Abbildung 4). Selbst in dieser sehr komplexen Matrix werden außerordentlich niedrige Werte für die Bestimmungs- und Nachweisgrenze erreicht (Tabelle 2).

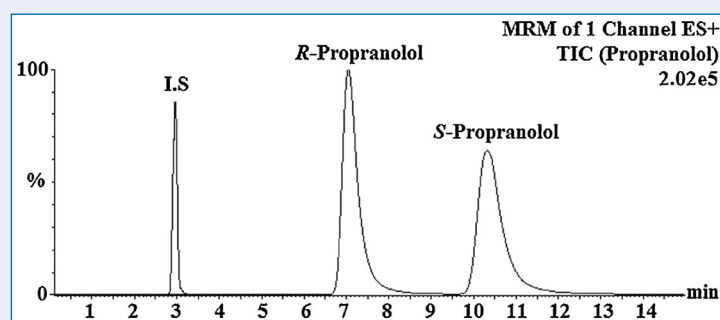


Abbildung 4: Enantioselektive Trennung von Propranolol in menschlichen Plasmaproben [1]

Tabelle 2: Nachweis- und Bestimmungsgrenze für Propranolol-Enantiomere in menschlichem Plasma

Nachweisgrenze (LOD)	10 ng/mL in menschlichem Plasma
Bestimmungsgrenze (LOQ)	50 ng/mL in menschlichem Plasma

4 Phasenscreening und Methodenentwicklung für Metoprolol

Nach der erfolgreichen Etablierung einer LC-MS Methode für die enantioselektive Bestimmung des β -Blockers Propranolol in menschlichem Plasma, erfolgte auf Anfrage von M. Abdel-Rehim und seiner Arbeitsgruppe ein chirales Screening für einen weiteren β -Blocker: Metoprolol.

Da das Ziel ebenfalls eine Trennung im RP-Modus mit MS-Detektion war, wurden immobilisierte chirale YMC-Phasen getestet. Die Trennung der beiden Enantiomere dieses Wirkstoffs wurde auf drei immobilisierten chiralen YMC-Phasen untersucht: CHIRAL ART Amylose-SA, CHIRAL ART Cellulose-SB und CHIRAL ART Cellulose-SC.

Um die Auflösung und Retention zu verbessern, wurde die Zusammensetzung der mobilen Phase variiert. Die Ergebnisse zeigten, dass die beste Trennung von (R)- und (S)-Metoprolol mit CHIRAL ART Cellulose-SB erreicht wird.

Metoprolol: Beste Trennung mit CHIRAL ART Cellulose-SB

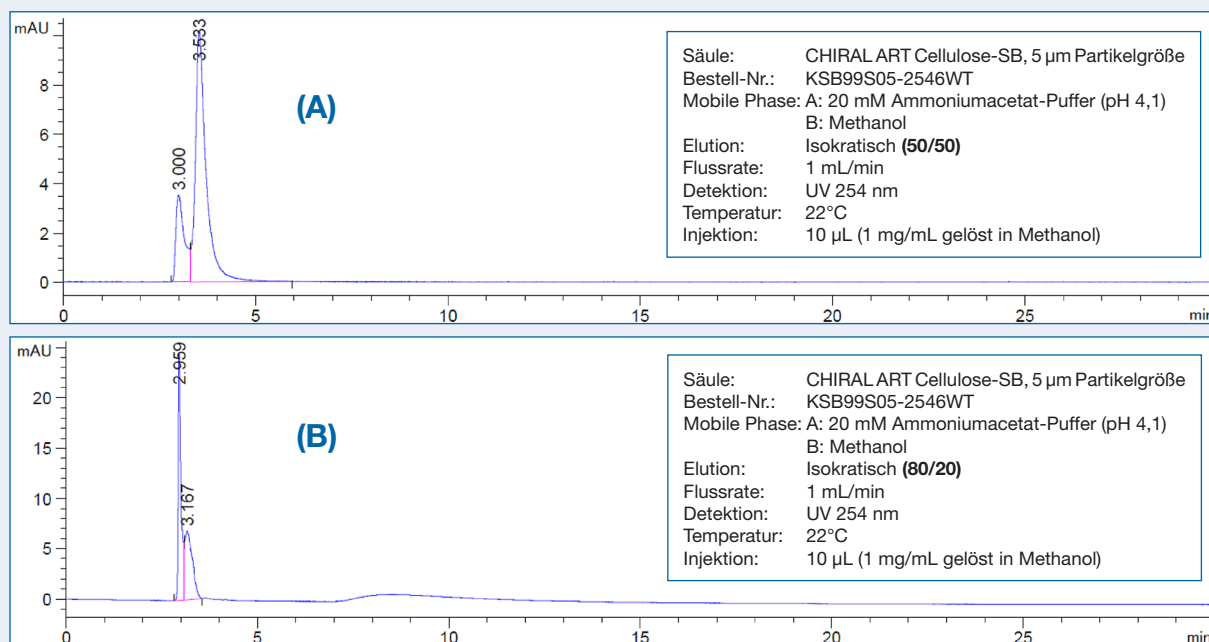


Abbildung 5: Bestimmung von Metoprolol mit CHIRAL ART Cellulose-SB: Zusammensetzung der mobilen Phase (A) 50/50 und (B) 80/20

Mit den Daten aus dem Phasenscreening, die zeigten, dass CHIRAL ART Cellulose-SB die beste Wahl ist, konnten H. Elmongy et al. die bereits bestehende LC-MS-Methode für die Bestimmung von Propranolol erfolgreich auf die Trennung von Metoprolol übertragen. Neben der enantioselektiven Bestimmung von β -Blockern in menschlichem Plasma, erweiterten sie den Anwendungsbereich um eine weitere komplexe Matrix: menschlichem Speichel. Die Ergebnisse wurden in der Fachzeitschrift Biomedical Chromatography [2] im August 2016 veröffentlicht. Sie sind im nachfolgenden Kapitel zusammenfassend dargestellt.

Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

Enantioselektive Bestimmung von β -Blockern in menschlichem Plasma und Speichel

Datum: 04.01.2017
Autor: Anna Bergmann

5 Analyse von Metoprolol in Plasma- und Speichelproben

Basierend auf den Ergebnissen der ersten Veröffentlichung und dem Phasenscreening, erarbeiteten M. Abdel-Rehim und seine Arbeitsgruppe eine Methode für die enantioselektive Bestimmung von Metoprolol in menschlichen Plasma- und Speichelproben. Der Artikel „Determination of metoprolol enantiomers in human plasma and saliva samples utilizing micro-extraction by packed sorbent and liquid chromatography-tandem mass spectrometry“, welcher im August 2016 in der Fachzeitschrift Biomedical Chromatography [2] veröffentlicht wurde, stellt die Ergebnisse der Studie zusammen.

Tabelle 3: Analytische Bedingungen für die Trennung von Metoprolol Enantiomeren [2]

Säule	CHIRAL ART Cellulose-SB, 5 μm Partikelgröße, 150 x 4,6 mm ID
Bestell-Nr.	KSB99S05-1546WT
Mobile Phase	<i>n</i> -Hexan/Isopropanol (80/20) mit 0,1% Ammoniumhydroxid
Makeup-Lösungsmittel	0,5% Ameisensäure in Isopropanol
Flussrate	0,8 mL/min
Injektionsvolumen	50 μ L
Detektion	ESI-MS
Probenvorbereitung	Mikroextraktion beider Enantiomere mit einem gepacktem C18-Sorbens (MEPS)

Benutzung von Makeup-Lösungsmitteln

Die Verwendung von Makeup-Lösungsmitteln für die Analyse von Metoprolol verbessert ebenfalls die chromatographischen Ergebnisse bei der MS-Detektion bezüglich Stabilität der Basislinie, Auflösung und Peakform (Abbildung 6).

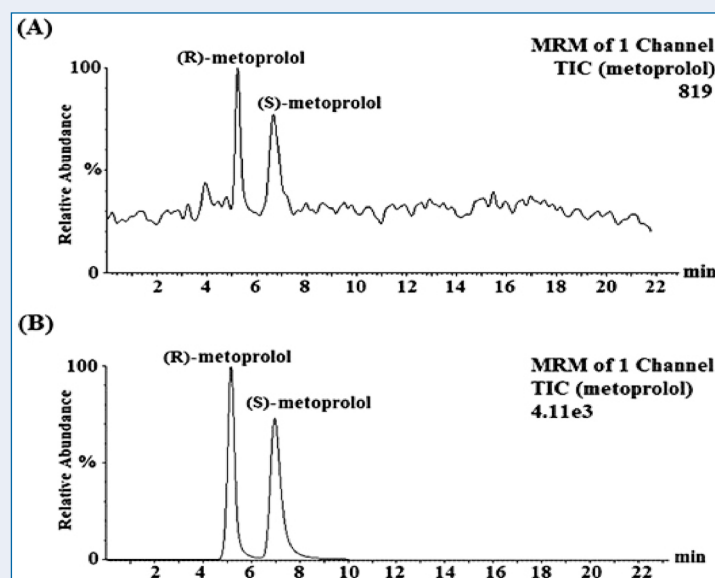


Abbildung 6: Enantioselektive Trennung von Metoprolol in Plasma (A) ohne und (B) mit Makeup-Lösungsmittel [2]

Metoprolol
Propranolol
Chirale Trennung

Enantioselektive Bestimmung von β -Blockern in menschlichem Plasma und Speichel

Datum: 04.01.2017

Autor: Anna Bergmann

Wie schon bei Propranolol, kann die Methode erfolgreich von den Standards auf die Zielproben – menschliches Plasma und menschlicher Speichel – übertragen werden (Abbildung 7). Da mit der Methode der therapeutische Gehalt von Metoprolol in menschlichem Plasma und Speichel bestimmt werden kann, kann die Methode in klinischen Laboratorien für das therapeutische Drug Monitoring genutzt werden. Auch hier ergeben sich äußerst niedrige Werte für die Nachweis- und Bestimmungsgrenze bei beiden Matrices, Plasma und Speichel (Tabelle 4).

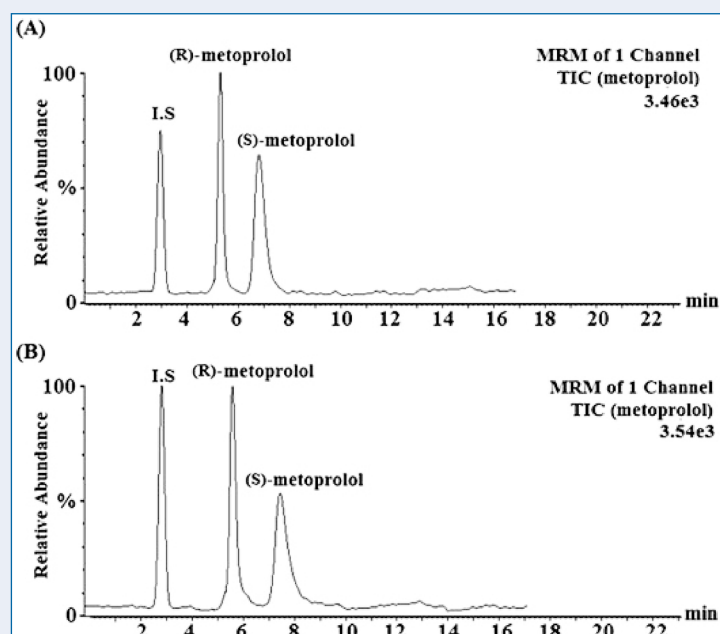


Abbildung 7: Enantioselektive Trennung von (R)- und (S)-Metoprolol in menschlichem (A) Plasma und (B) Speichel [2]

Tabelle 4: Nachweis- und Bestimmungsgrenze für Metoprolol-Enantiomere in menschlichem Plasma und Speichel

Nachweisgrenze (LOD)	0,5 ng/mL in menschlichem Plasma und Speichel
Bestimmungsgrenze (LOQ)	1,5 ng/mL in menschlichem Plasma und Speichel

6 Zusammenfassung

YMC liefert:

- beschichtete und immobilisierte chirale Phasen
- Unterstützung bei der chiralen Trennung:
von Applikationen zum Phasenscreening bis hin zur Methodenentwicklung
- vollständig reproduzierbare Applikationen

Mit CHIRAL ART Cellulose-SB können die folgenden Ziele erreicht werden:

- enantioselektive Bestimmung von β -Blockern
- Basislinientrennung mit hoher Auflösung
- Bestimmungen in komplexen Matrices

7 Literatur

[1] H. Elmongy, et al., Online post-column solvent assisted and direct solvent assisted electrospray ionization for chiral analysis of propranolol enantiomers in plasma samples, *J. Chromatogr. A* (2015).

[2] H. Elmongy, et al., Determination of metoprolol enantiomers in human plasma and saliva samples utilizing microextraction by packed sorbent and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Biomed. Chromatogr.* (2016).