

## Bestimmung von Immunsuppressiva in Vollblut

**Immunsuppressiva** werden bei Patienten mit transplantierten Organen oder Geweben eingesetzt, um das körpereigene Immunsystem davon abzuhalten, die fremden Teile abzustößen.

**Cyclosporin A, Tacrolimus, Sirolimus und Everolimus** sind vier der am häufigsten verwendeten Medikamente nach Organtransplantationen.

- ✓ Aufgrund von pharmakokinetischen Schwankungen und der engen therapeutischen Breite ist eine exakte Überwachung dieser Substanzen im Patienten unbedingt erforderlich.
- ✓ Und zwar nicht nur, um die Organabstoßung zu vermeiden, sondern auch um toxische Nebenwirkungen zu minimieren.

Eine **einfache Probenvorbereitung** in Verbindung mit einer **schnellen chromatografischen Trennung** auf einer Raptor Biphenyl Core-Shell Säule ermöglicht eine **Hochdurchsatzanalytik** dieser wichtigen Substanzen in **Vollblut**, wodurch die Patienten zeitnah optimal eingestellt werden können.

Die analysierten **Substanzen** sind **strukturell recht ähnlich** (Abbildung 1), insbesondere Sirolimus und Everolimus. Deshalb wurde eine **Raptor Biphenyl** Säule eingesetzt, die eine hervorragende Selektivität für sehr ähnliche Substanzen mitbringt, sofern diese über viele pi-Elektronen verfügen.

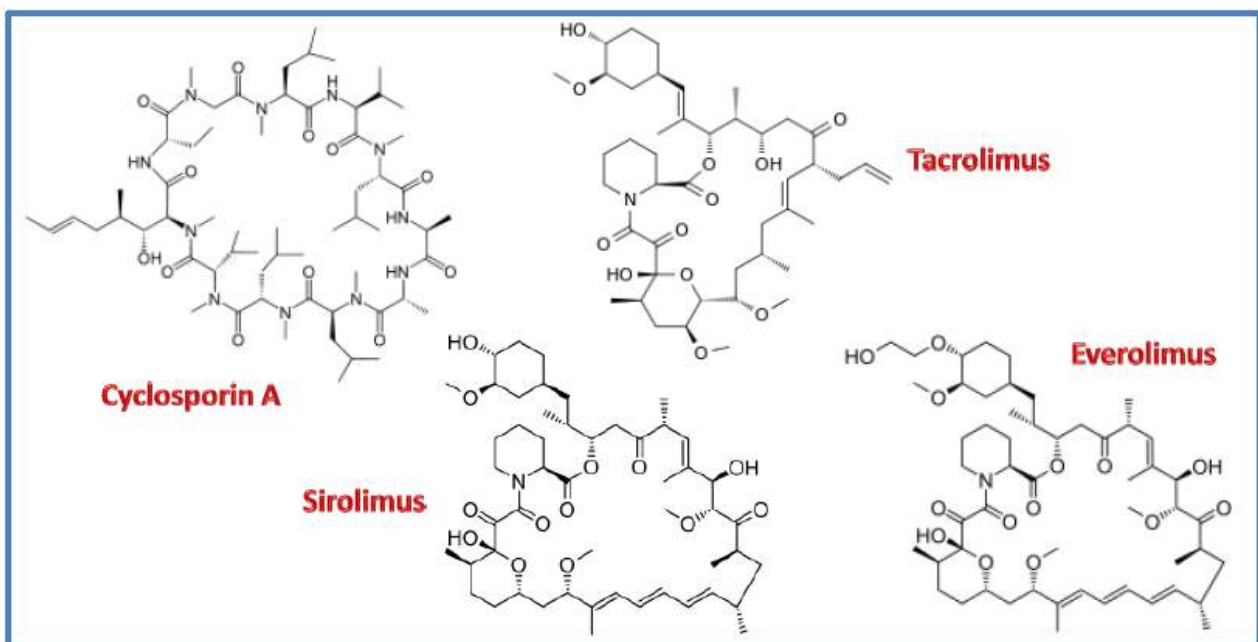
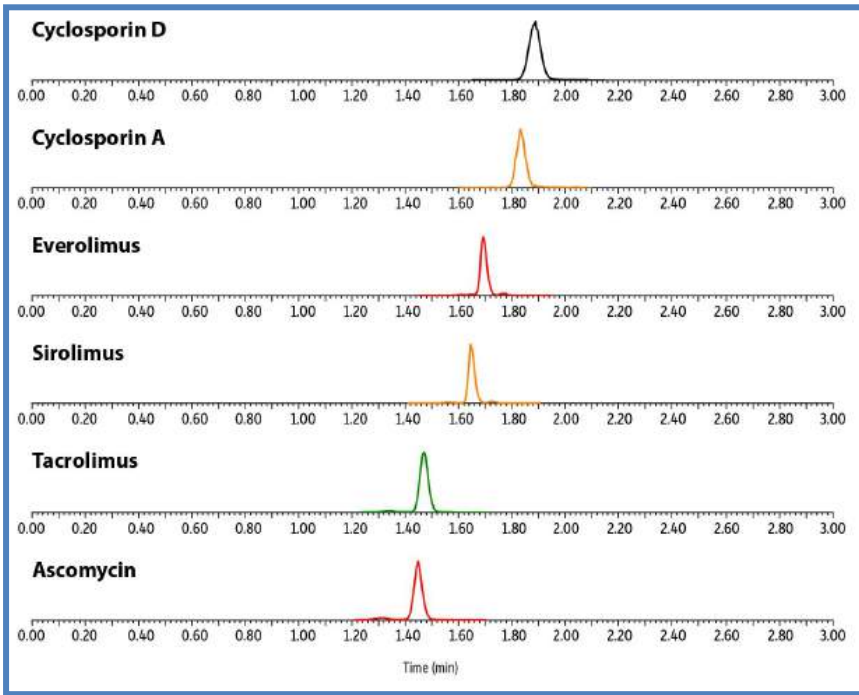


Abbildung 1: Strukturen der vier analysierten Immunsuppressiva

## Chromatogramme:



Peaks	t <sub>R</sub> (min)	Konz. (ng/mL)	Precursor Ion	Produkt Ion
1. Ascomycin	1.45	10	809.53	756.50
2. Tacrolimus	1.47	10	821.61	768.51
3. Sirolimus	1.64	10	931.63	864.57
4. Everolimus	1.69	10	975.68	908.62
5. Cyclosporin A	1.83	10	1219.83	1202.87
6. Cyclosporin D	1.89	100	1233.91	1216.88

Abbildung 2:

10 ng/mL Immunsuppressiva in Vollblut, Interne Standards Cyclosporin D (für Cyclosporin A) und Ascomycin (für Tacrolimus, Sirolimus, Everolimus)

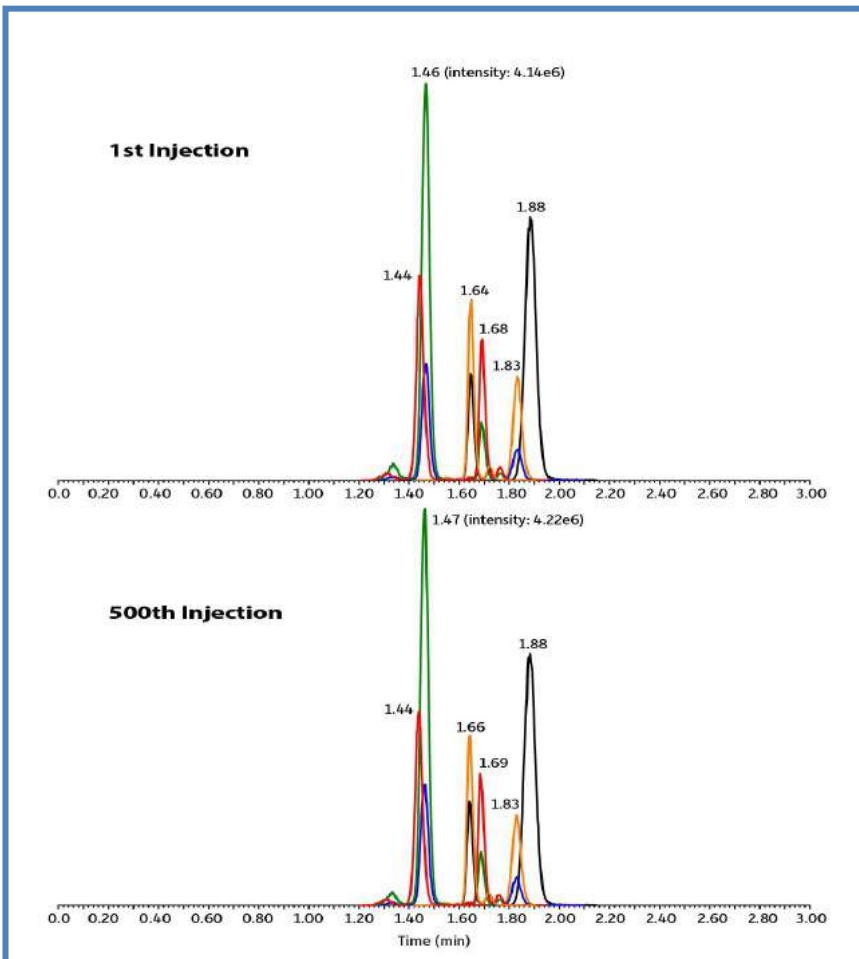


Abbildung 3: Robustheit der Methode. Identische Trennleistung und gleicher Rückdruck nach 500 Injektionen.

**Probenvorbereitung:**

- Probe: Menschliches Vollblut, gespikt mit je 10 ng/mL Immunsuppressivum (Tacrolimus, Sirolimus, Everolimus, Cyclosporin A)
- Fällungsreagenz: 1:4 (v/v) 0.2 M ZnSO<sub>4</sub>:Methanol
- Interner Standard: 50 ng/mL Cyclosporin D, 5 ng/mL Ascomycin, dem Fällungsreagenz zugesetzt
- 100 µL Probe mit 200 µL Fällungsreagenz (mit Internem Standard) versetzen, vortexen für 20 Sekunden bei 3000 U/min, zentrifugieren für 10 Minuten bei 4300 U/min. Überstand abnehmen und 5µL injizieren.

**Messbedingungen:**

<b>Säule:</b>	Raptor Biphenyl (Art. Nr. 9309A52)
Dimension:	50 mm x 2.1 mm ID
Partikelgröße:	2.7 µm
Porenweite:	90 Å
Vorsäule:	Raptor Biphenyl EXP Vorsäulenkartusche 5 mm, 2.1 mm ID, 2.7 µm (Art.Nr. 9309A0252)
Temp.:	70 °C
Inj. Vol.:	5 µL

**Mobile Phase**

A:	0.05% Ameisensäure, 5mM Ammoniumformiat in Wasser
B:	Methanol

Zeit (min)	Flussrate (mL/min)	%A	%B
0.00	0.5	40	60
2.00	0.5	0	100
2.01	0.5	40	60
3.00	0.5	40	60

Max. Druck 305 bar

**Detektor** MS/MS

Ionisierungsmodus ESI+

Messmodus MRM

**Gerät** UHPLC

## Literaturtipp:

Weitere Detailinformationen finden Sie im Technical Poster „ [Analysis of Immunosuppressive Drugs From Whole Blood by LC-MS/MS](#)“

## Fast Facts zur Raptor Biphenyl Core-Shell Säule

- ✓ Der Spezialist für alles Ungesättigte und Aromatische
- ✓ Erhöhte Retention und bessere Trennung durch starke pi-Wechselwirkungen
- ✓ Ideale Selektivität für schwierige Trennungen und Isomerentrennungen



## Wechseln Sie zu Raptor Biphenyl, wenn Sie

- auf C18 oder herkömmlichen Phenylphasen ungenügende Selektivität bzw. kritische Trennungen beobachten
- mehr Retention für polare Aromaten benötigen
- schmale Peaks, schnelle Trennungen und lange Säulenstandzeiten erreichen möchten

## Anwendungsbeispiele:

Drogen und Medikamente aller Art (z.B. Amphetamine, Antidepressiva, Antiepileptika, Antipsychotika, Anxiolytika, Barbiturate, Betablocker, Benzodiazepine, Halluzinogene, NSAR/NSAIDS (nicht steroidale Entzündungshemmer), Opiate, Phenothiazine, Steroide/Cortikoide, Stimulanzen, Sulfonamide, ...), Catecholamine, Nitroaromaten /Sprengstoffe, Serotonin, Substituierte Benzole, ...

Alle Bestellinformationen und weitere Applikationen zur Raptor Biphenyl-Säule finden Sie [HIER](#).

**Haben Sie Fragen zu dieser Problematik oder benötigen Sie weitere Informationen dazu?  
Kontaktieren Sie uns!**

Dr. Ute Beyer, Tel. 06172/2797-42, Email [ute.beyer@restekgmbh.de](mailto:ute.beyer@restekgmbh.de)

