



# Selectiviteit anders bekeken

Hai Holthuysen  
 Viecuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg  
 Tegelseweg 210, 5912 BI Venlo  
 hholthuysen@viecuri.nl

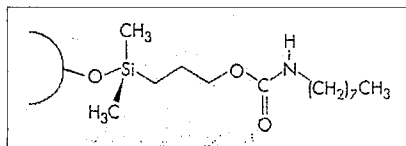
## Inleiding

Ongeveer 90% van de HPLC bepalingen ten behoeve van Therapeutic Drug Monitoring en Toxicologische analyse die momenteel worden uitgevoerd in het laboratorium van de apotheek van het Viecuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg worden uitgevoerd met slechts één kolom in combinatie met één loopp middel. Het betreft een kolom van de firma Waters, te weten een Symmetry C8, met een lengte van 150 mm, een interne diameter van 3,9 mm en een deeltjes grootte van 5 µm. Om de analytische kolom te beschermen wordt gebruik gemaakt van een voorkolom met dezelfde chemische samenstelling als de analytische kolom, de lengte hiervan is 20 mm. Het loopp middel bestaat uit een 0,1 M kaliumdiwaterstoffosfaat buffer met een pH van 4 en acetonitril in een verhouding 70/30. Met deze combinatie is het mogelijk circa 150 geneesmiddelen te elueren, variërend van tricyclische antidepressiva, benzodiazepinen, barbituraten en anti-epileptica tot de groep van de cardiaca aan toe.

## SymmetryShield

Naast deze conventionele C8 stationaire fase brengt Waters ook een kolom op de markt die bekend staat als de SymmetryShield RP8. De stationaire fase van deze kolom verschilt van de C8 fase doordat in de alkylsilaan gebonden fase een carbamaatgroep is ingebouwd. De structuur van de stationaire fase is in figuur 1 weergegeven.

De werking berust op een competitie die optreedt tussen de carbamaatgroep en het polaire gedeelte in het te analyseren molecuul om inter-



Figuur 1.  
 Stationaire fase SymmetryShield RP8.

actie aan te gaan met de silanolgroepen die zich bevinden aan het oppervlak van de stationaire fase. De carbamaatgroep zorgt voor een afscherming (shielding) van deze silanolgroepen, wat resulteert in kortere retentietijden en minder tailing voor componenten die polaire groepen bevatten.

De carbamaatgroep verandert dus de selectiviteit ten opzichte van de Symmetry C8 stationaire fase. Daarnaast vertoont de SymmetryShield kolom een betere werking wanneer gebruik wordt gemaakt van een mobiele fase met een hoog percentage water. Deze verbetering vindt plaats dankzij de ingebouwde carbamaatgroep die er voor zorgt dat de kolom beter wordt bevochtigd, waardoor de verdeling van de

component tussen de mobiele en stationaire fase sneller plaats vindt.

## Symmetry C8 vs. SymmetryShield RP8

Ondanks de voordelen van het gebruik van één kolom en één mobiele fase is het natuurlijk onmogelijk om alle 150 componenten van elkaar te scheiden. Bij de bepaling van diverse psychofarmaca ondervindt het laboratorium met name storing van enkele benzodiazepinen. Zo wordt nortryptiline en fluvoxamine op de Symmetry C8 gestoord door oxazepam, terwijl clomipramine en desmethylclomipramine door desmethyldiazepam worden gestoord. Beide benzodiazepinen worden veelvuldig toegepast als co-medicatie. Zulke scheidingsproblemen worden normaliter opgelost door een aanpassing van de mobiele fase. Deze procedure is echter vaak tijdrovend en verbruikt aanzienlijke hoeveelheden organische vloeistof. Een andere benadering gaat uit van een kolom met een andere selectiviteit. Wij hebben gekozen voor de laatste optie.

Naam	Symmetry C8	SymmetryShield
Amitryptiline	10,10	7,39
Citalopram	5,03	4,24
Clomipramine	17,59	11,87
Clozapine	4,35	3,78
Desipramine	8,65	5,81
Desmethylcitalopram	4,62	3,99
Desmethylclomipramine	15,02	11,04
Desmethyldoxepine	4,81	4,12
Desmethylmaprotiline	8,88	6,63
Doxepine	5,29	4,38
Fluvoxamine	9,02	6,24
Imipramine	9,33	6,21
Maprotiline	10,07	7,50
Nortryptiline	9,07	6,99
Paroxetine	7,86	6,72
Protiadeen	7,77	6,21
Sertraline	14,89	11,71
Trimipramine	11,65	8,24

Tabel 1: Retentietijden psychofarmaca.

In dit onderzoek werden 150 componenten ingespoten op zowel de Symmetry C8 als de SymmetryShield RP8. De systeem parameters werden voor beide kolommen gelijk gehouden. De retentietijden van enkele psychofarmaca en benzodiazepinen werden naast elkaar gelegd. Er bleek een groot verschil te zijn in selectiviteit van de componenten voor de beide kolommen.

## Retentietijden

In tabel I (op de vorige pagina) zijn van de meest gangbare psychofarmaca die in ons laboratorium worden bepaald de retentietijden weergegeven op de Symmetry C8 en de SymmetryShield RP8

In tabel II zijn van de meest gangbare benzodiazepinen die in ons laboratorium worden bepaald de retentietijden weergegeven op de Symmetry C8 en de SymmetryShield RP8.

## Conclusie

Uit de retentietijden van de SymmetryShield t.o.v. de Symmetry C8 kunnen we de volgende conclusies trekken:

1. De retentietijden voor de psychofarmaca en de benzodiazepinen zijn aanzienlijk korter.
2. De scheiding tussen amitryptiline/nortryptiline, clomipramine/desmethylclomipramine, imipramine/desipramine, citalopram/des-

methylcitalopram is minder geworden.

3. Oxazepam wordt gescheiden van fluvoxamine en nortryptiline.
4. Desmethyldiazepam wordt gescheiden van clomipramine en zijn metaboliet.

Deze resultaten voor de psychofarmaca en de benzodiazepinen laten een aanmerkelijk verschil in selectiviteit zien voor de beide kolommen. De eerder genoemde storingen treden bij het gebruik van de SymmetryShield niet op. In plaats van aanpassing van de mobiele fase hebben wij gekozen voor de aanschaf van de SymmetryShield. De kolom is reeds geruime tijd in gebruik op ons laboratorium en blijkt even stabiel en betrouwbaar te zijn als de Symmetry C8. Daarnaast is experimenteel vastgesteld, dat het gebruik van een mobiele fase met een hoog percentage water geen problemen oplevert bij de SymmetryShield, dit in tegenstelling tot de Symmetry C8.

Het volledige overzicht van alle componenten die werden getest op beide kolommen is bij de schrijver van dit artikel op te vragen.

Naam	Symmetry C8	SymmetryShield
Bromazepam	4,54	4,38
Clobazam	19,47	14,58
Clonazepam	12,51	12,98
Desmethylclobazam	10,75	9,78
Desmethyldiazepam	16,70	13,84
Desmethylflunitrazepam	9,18	10,00
Diazepam	26,80	21,16
Flunitrazepam	15,89	14,06
Lorazepam	10,27	9,74
Midazolam	9,55	4,97
Nitrazepam	9,57	9,98
Oxazepam	8,66	7,98
Temazepam	14,69	12,17

Tabel II: Retentietijden benzodiazepinen.