

Uitdagende toxicologie

Christ Pijnenburg,
ZANOB, Den Bosch
C.Pijnenburg@zanob.nl

Inleiding

De krenten in de pap voor een ervaren klinisch farmaceutisch toxicologisch analist is de uitdaging om een echte moeilijke tox tot een goed einde te brengen. Door de introductie van het STIP systeem ruim 10 jaar geleden is het allemaal al een stuk eenvoudiger geworden. Alles is te vinden als het maar in de STIP bibliotheek staat, maar als het spectrum er niet in staat wat dan? Hier dan ook een leuke ervaring van een analist van de ZANOB. Aan het einde van dit verhaal zal ook nog even de STIP-LC/MS aangehaald worden en daaruit zal blijken dat het gebruik van MS zinvol is en toekomst heeft.

STIP analyse

Begin april werd een bloedmonster binnengebracht met het verhaal dat het met de patiënt niet zo goed ging

en of er een uitgebreide screening kon worden uitgevoerd. De stoffen lorazepam en fluvoxamine werden als mogelijkheden aangegeven. Na het uitvoeren van de standaard screening gaf het basisch extract het volgende interessante chromatogram
Chromatogram van het basisch (1 ml) en zuur extract (100 µl) opgewerkt (zie figuur 1 en 2).

Na verwerking met behulp van STIPsearch werden de pieken in het chromatogram als volgt verklaard. In het basisch extract werden gevonden:

Resultaat STIPsearch: Lorazepam: 1,5 mg/l en Fluvoxamine: 170 µg/l (zie figuur 3 en 4).

Er bleef een grote piek (Rt: 3.60) en een kleine piek (Rt: 4.75) over die niet te verklaren waren.

Deze werden niet goed gematched met de STIP bibliotheek. Het zoekresultaat van de grootste piek in het

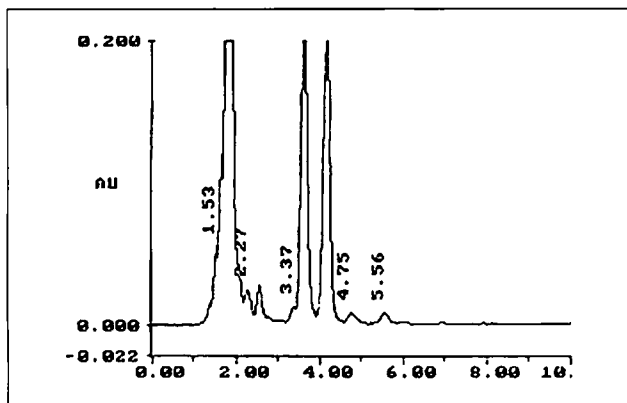
chromatogram stuurde de analist richting een "promazine-achtige".

Als voorbeeld Chloorpromazine (zie figuur 5 op de volgende pagina).

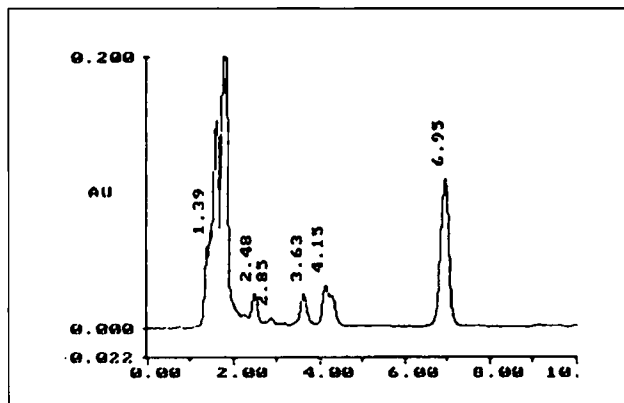
In het zure extract werd nog naproxen aangetoond met concentratie van 16 mg/l:

Resultaat zure extract (zie figuur 6 op de volgende pagina).

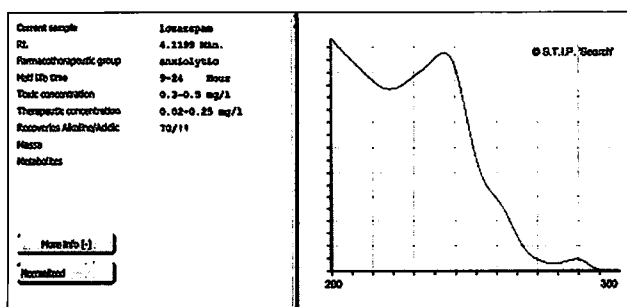
Latere informatie vanuit de kliniek gaf aan dat er een dierengeneesmiddel in het spel was namelijk: Calmivet®, dat gebruikt wordt om dieren rustig te maken. Calmivet werd onder de naam acepromazine uitvoerig beschreven in de nieuwe Clarke. Echter na het injecteren van de stof acepromazine in het STIP systeem bleek de retentietijd en spectrum uit de Clarke niet overeen te komen met de grote piek in het chromatogram. Wel werd de kleine piek als acepromazine geïdentificeerd.



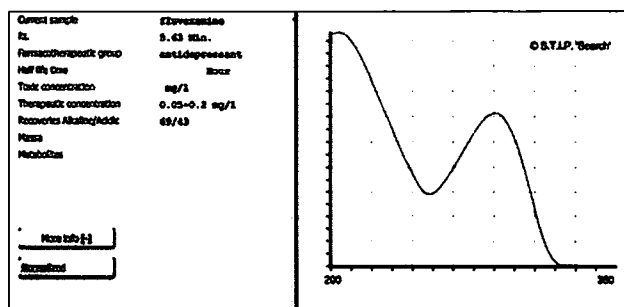
Figuur 1: basisch extract



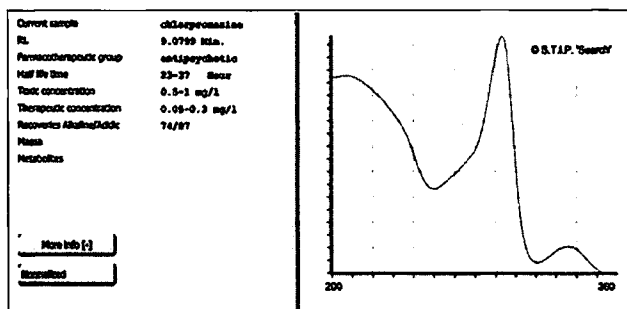
Figuur 2: zuur extract



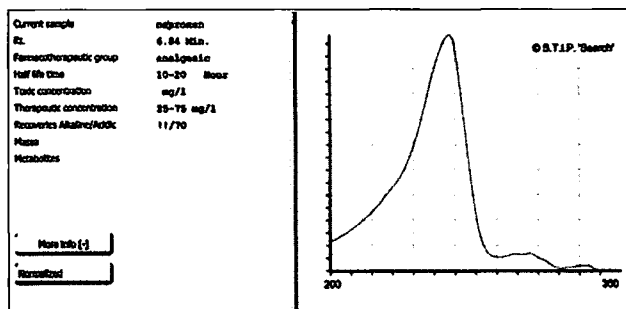
Figuur 3: spectrum van Lorazepam



Figuur 4: spectrum van Fluvoxamine



Figuur 5: spectrum van Chloorpromazine



Figuur 6: spectrum van Naproxen

Resultaat acepromazine (zie figuur 7)

Uit de Clarke bleek dat acepromazine door rode bloedcellen wordt omgezet in hydroxyethylpromazine, met een waterstof aan de dubbelgebonden zuurstof. Aangezien dit stofje niet in huis was en ook niet snel te verkrijgen was is er acepromazine toegevoegd aan bloed. Dit hebben we een dag laten staan. Na uitvoeren van een screening op dit bloed werd een piek gevonden met dezelfde retentietijd (Rt:3.65) en het spectrum van de grote piek bij de patiënt. Ook de acepromazine werd nog teruggevonden.

Hydroxyethylpromazine: (zie de vergelijking met bovenstaande chloorpromazine) (zie figuur 8).

Volgens onze ervaren analist was de casus rond, de toestand van de patiënt was te verklaren door het Calmivet® dat was gebruikt. Het was nu niet echt een snel resultaat maar de volgende keer (!) zal m.b.v. STIP de Calmivet® intoxicatie uit het systeem rollen.

Na bespreking van deze casus werd besloten de stof acepromazine en het product dat gevormd wordt door de rode bloedcellen in de STIP bibliotheek te verwerken. In de STIP

update zullen beide stoffen verwerkt zijn. Van de hydroxy-vorm zal dan alleen het spectrum bruikbaar zijn en zal concentratie indicatie niet mogelijk zijn omdat de grondstof niet te verkrijgen is.

STIP-MS

In het begin van het verhaal gaf ik al aan dat ook de LC/MS in dit onderzoek was gebruikt. Aangezien LC/MS nog weinig wordt gebruikt in de laboratoria van apotheken is het niet verwerkt in bovenstaand verhaal. In het kort toch even het gebruik van LC/MS in deze casus. Op dit moment is het mogelijk de STIP bibliotheek te combineren met het LC/MS systeem. Het effect van ion-suppressie bij LC/MS is nagenoeg omzeild en de chromatografie van de LC/MS en de STIP bibliotheek lopen gelijk.

Bij de injectie van het basisch extract werd de massa 328 gevonden bij de piek met retentietijd van de de grote 'promazine' piek in het STIP chromatogram. De massa van acepromazine waarvan we in eerste instantie dachten dat dit deze piek betrof was 327. De eerste reactie was dat de MS gekalibreerd moest worden omdat de massa niet overeen kwam met acepromazine. Na het lezen van de informatie in de

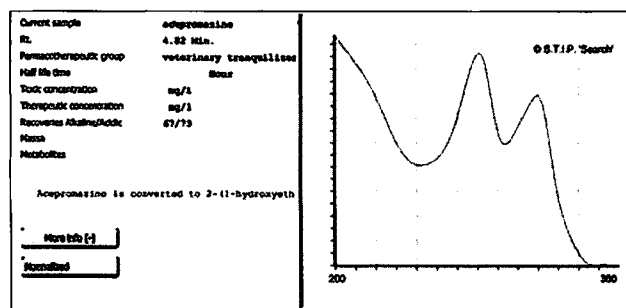
Clarke en de verdere resultaten bij de klassieke STIP werd al snel duidelijk dat het hier dus de hydroxy-vorm betrof. De hydroxy-vorm heeft de massa van waterstof (1) meer dus wordt de massa 328. Door de MS werd dit gemeten als 328. Na de opwerking van het spike bloedmonster met acepromazine - waarin de hydroxy-vorm ontstaan was - werden beide stoffen en massa's gevonden met LC/MS. Vervolgens zijn beide stoffen met retentietijd en massa in de STP/DAD/MS bibliotheek geplaatst. Het zal niemand verbazen dat na invoeren van de patiënt resultaten, identificatie door de STIP-MS ook werd bevestigd. STIP-MS biedt de mogelijkheid om te zoeken op retentietijd in combinatie met de massa van de stoffen (experimenteel stadium).

Slot Conclusie

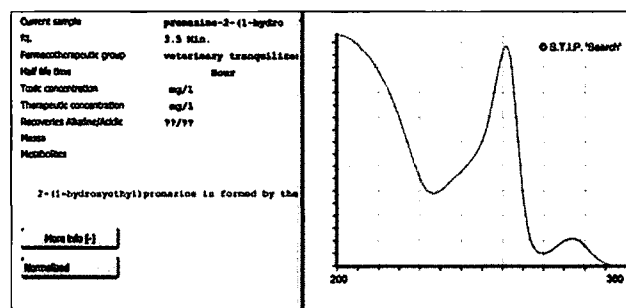
Deze casus bleek een echte uitdaging voor onze ervaren analist, die met een voldaan gevoel het weekend inging.

"De pap is vaak (soms) lekker maar met bovenstaande krenten er in is deze pap voor de ervaren analisten een pure lekkernij..."

PS: Dit verhaal is eerlijk gestolen van onze ervaren analist, dus met dank aan hem.



Figuur 7: spectrum van acepromazine



Figuur 8: spectrum van Hydroxyethylpromazine