



## Methodieken

### Bepaling van de antidepressiva tolvon, prothiaden en fevarin naar aanleiding van experimentele KKGt sera.

ing R. Langen.  
Laboratorium Ziekenhuis Apotheek Midden-  
Brabant, Maria Ziekenhuis  
Dr. Deelenlaan 5, Postbus 90107  
5000 LA Tilburg.

#### Synoniemen:

Tolvon : Mianserine  
(Desmethylmianserine= metaboliet)  
Prothiaden: Dosulepine  
(Desmethyldosulepine= metaboliet)  
Fevarin : Fluvoxamine.

#### Therapeutische concentratie:

Mianserine / Desmethylmianserine:  
samen 35 - 125 µg /l.  
Dosulepine / Desmethyldosulepine:  
samen 100 - 200 µg /l.  
Fluvoxamine : 50 - 200 µg fluv/l.

#### Grondstoffen:

Grondstof/Kwaliteit/Leverancier/Art. nr.  
Acetonitril/Lichrosolv/Merck/30  
Aqua dest//Apotheek  
Desmethylmianserine HCl//Organon/  
Dothiepin (Dosulepine)//Boots Pharm./  
Doxepine/Capsule/Apotheek/  
Fluvoxamine maleaat//Duphar/  
Fosforzuur (85 %)/PA/Merck/573  
Hexaan/Uvasol/Merck/4372  
Imipramine HCl//Bufa Chemie/  
Isoamylalcohol/PA/Merck/979  
Kaliumhydroxide/PA/Merck/5033  
Mianserine HCl//Organon/  
Methanol/Lichrosolv/Merck/6007  
Natriumcarbonaat/PA/Merck/6392  
Northiaden HCl//Boots Pharm./

#### Reagentia:

- Loopvloeistof:  
380 ml CH<sub>3</sub>CN : 620 ml Buffer  
Buffer voor loopvloeistof:  
620 ml H<sub>2</sub>O + 3000 µl H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, breng op  
pH 3.35 met 10 M KOH.
- KOH 10 M.
- Interne standaard:  
Doxepine 2 mg/l in H<sub>2</sub>O.

- Extraktie buffer:  
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1.0 M in H<sub>2</sub>O.
- Extraktie vloeistof:  
n-Hexaan 99 : isoamylalcohol 1 (v/v).

#### HPLC systeem:

Photo diode array detector L-3000 Merck-  
/Hitachi.  
Autosampler AS-2000 Merck/Hitachi.  
Pomp L-6200 Merck/Hitachi.  
Interface D-6000 Merck/Hitachi.  
Computer Tulip AT compact 2.  
Software HPLC manager versie 2 Merck/Hi-  
tachi.  
Detektie 205 nm, 0.04 aufs.  
Injektie 30 µl.  
Flow 1 ml/min.  
Kolom Shandon Hypersil BDS C8 5 µm 150 x  
4.6 mm (LC service cat no 59874582).  
Voorkolom Shandon Hypersil BDS C8 5 µm  
(LC service cat no 66940055).

#### Werkwijze:

Pipetteer in een centrifuge buis:  
Hoeveelheid serum: 2000 µl  
Interne standaard: - 100 µl  
Methanol: 2000 µl  
Op vortex onteiwitten.  
Extraktie buffer: 100 µl  
Extraktie vloeistof: 6 ml  
Zwenk de buis 15 x krachtig om.  
Centrifugeer 5 minuten bij 4000 rpm.  
Pipetteer de hexaan laag af en breng  
deze over in een schone buis.  
Damp de hexaan laag in onder stikstof  
bij 40 °C.  
Los het residu mbv vortexen en ultrasoon  
op in 100 µl loopvloeistof.  
Injekteer 30 µl van de heldere oplos-  
sing.

#### Berekeningen:

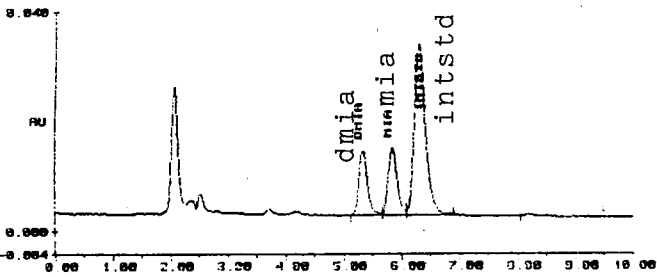
Met behulp van de ratio's van de piek-  
hoogten van de monster/interne standaard  
pieken.

#### Detektie grenzen:

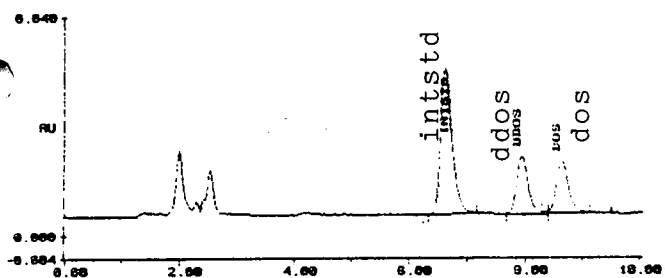
Mia : 10 µg/l. Dmia: 10 µg/l.  
Dos : 10 µg/l. Ddos: 10 µg/l.  
Fluv: 20 µg/l.  
De detektie grens is gedefinieerd als  
3 x het ruis niveau.

**Variatie coefficient:**

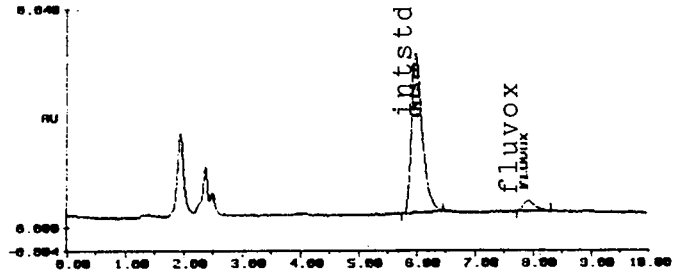
Mia : 1.5 % Dmia: 3.1 %  
(n=6, conc. 40 µg/l in plasma).  
Dos : 4.5 % Ddos: 9.6 %  
(n=4, conc. 25 µg/l in plasma).  
Fluv: 6.3 %  
(n=4, conc. 25 µg/l in plasma).



**Chromatogram I.**  
HPLC chromatogram van een plasma extract.  
Plasma concentraties:  
Mianserine en desmethylmianserine elk 40 µg/l.



**Chromatogram II.**  
HPLC chromatogram van een plasma extract.  
Plasma concentraties:  
Dosulepine en desmethylDOSulepine elk 50 µg/l.



**Chromatogram III.**  
HPLC chromatogram van een plasma extract.  
Plasma concentratie:  
Fluvoxamine 25 µg/l.

**Extraktie opbrengst:**

Mia : 99 % Dmia: 77 %  
(n=6, conc. 80 µg/l in plasma).  
Dos : 98 % Ddos: 91 %  
(n=4, conc. 100 µg/l in plasma).  
Fluv: 74 %.

**Lineariteit van de ijklijnen:**

De lineariteit van de ijklijnen is getest tot:  
Mia : 400 µg/l. Dmia: 400 µg/l.  
Dos : 400 µg/l. Ddos: 400 µg/l.  
Fluv: 400 µg/l.

**Alternatieve bepalingmethode:**

TDx / ADx semi kwantitatief.

**Veiligheid:**

- Voor deze bepalingen gelden de algemene maatregelen tav bloed overdraagbare aandoeningen.
- UV beschermingsbril dragen bij technische werkzaamheden aan de DAD, indien deze aan staat.
- Loopvloeistof bereiding in zuurkast en handschoenen aan.

**Milieu:**

- Bloed afval in de container 'specifiek ziekenhuisafval'.
- Loopvloeistof en overig organisch afval in de container 'categorie III' (halogeen-arme organische vloeistoffen).