

Psychofarmaca in serum

H. Meijer†, M. Ribbink, J. Wieferink en B. Drese
Klinisch Farmaceutisch & Toxicologisch Laboratorium
GELRE ziekenhuizen, Postbus 9014, 7300 DS, Apeldoorn

1. Algemeen

Bepaling van een aantal psychofarmaca in serum m.b.v. HPLC.

Monstervoorbewerking middels een dubbele vloeistof/vloeistof extractie. Detectie m.b.v. DAD en/of fluorescentie detector.

2. Chemicaliën en standaarden

2.1 Reagentia

REAGENS	Leverancier	Artikel nr.
Acetonitril	Riedel de Haen	00692
Methanol	Riedel de Haen	34860
Hexaan	Riedel de Haen	34913
Fosforzuur	Merck	573
Natriumcarbonaat	Merck	6392
Nonylamine	Merck	806845
Kaliumhydroxyde	Merck	5033
Aqua Dest	Braun	-

2.2 Eluens

- Voeg toe aan één liter aqua dest 1.00 ml geconcentreerd fosforzuur en 1.00 ml nonylamine.
- Breng op pH=2.8 met een 10% KOH-oplossing. (oplossing B)
- Meng twee delen B met één deel Acetonitril.

2.3 Extractievloeistof

- Breng 50 ml eluens op pH=2.00 met gec. fosforzuur.

2.4 Interne standaard 1

- ca. 0.2 mg protriptyline/l aqua dest.

Interne standaard 2

- ca. 2 mg doxepine/l aqua dest.

3.0 Apparatuur

Omschrijving	Type
HPLC\DATA-systeem	ThermoQuest\PC1000
HPLC-pomp	ThermoQuest\P2000
HPLC-autosampler	ThermoQuest\AS3000
HPLC-DAD	ThermoQuest\6000LP
Fluorescentie detector	Jasco FP 1520
HPLC-kolom	PlatinumEPS 10cm,3µm,4.6 ID
Koude-thermostaat	JuLabo FP50
Schudapparaat	Stuart Scientific SB1
Centrifuge	Sigma 4-1S

4.0 Werkwijze

- Pipetteer in een rondbodembuis achtereenvolgens:
 - ⇒ 1.00 ml serum
 - ⇒ 100 µl istd-oplossing
 - ⇒ 100 µl 1M natriumcarbonaatoplossing
 - ⇒ 3.00 ml hexaan
- Schud gedurende 5 minuten.
- Centrifugeer 5 minuten bij 4000 rpm
- Vries in bij -40 °C
- Breng de organische fase over in een schone rondbodembuis.
- Voeg toe 200 µl extractievloeistof
- Schud gedurende 5 minuten
- Centrifugeer 5 minuten bij 4000 rpm
- Vries in bij -40 °C
- Verwijder de organische laag.
- Injecteer van de waterige laag 20 µl.

5.0 Berekening

Met behulp van ratio's piekhoogte monster/standaard.

6.0 Validatieparameters

Paroxetine

Kwantificering **ex** λ : 300 nm

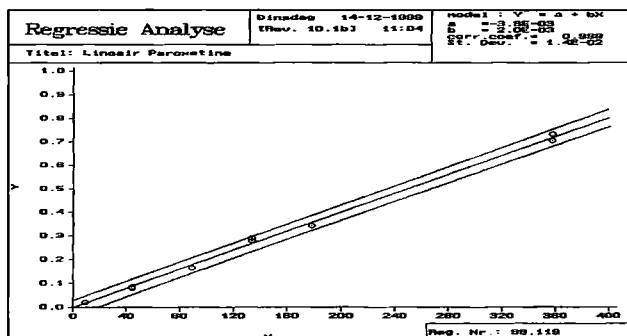
em λ : 340 nm

Alternatief λ : 245 nm

Lineair bereik : 10 - 350 µg/l

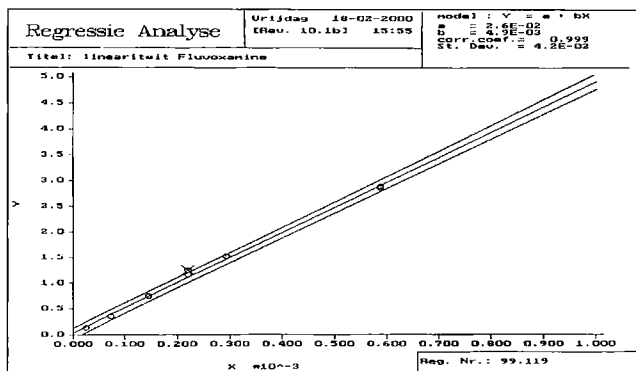
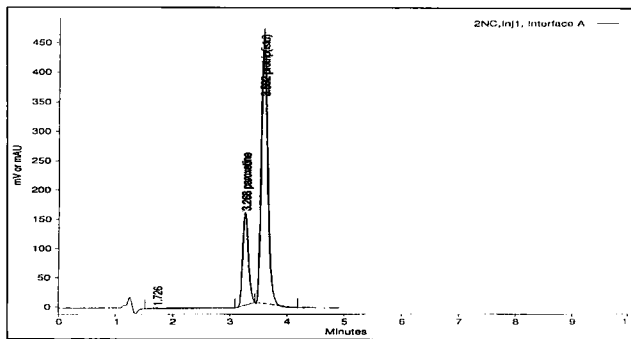
Corr.coef. : 0.9994

Paroxetine	49.6 µg/l	89.4 µg/l	179 µg/l	opm.
Recovery	79.9%	77.3%	85.9%	n=6
Juistheid	105.4%	95.9%	99.8%	n=6
95% BI	± 11.01	± 2.78	± 1.12	n=6
Variatiecoëff.	2.30%	2.52%	0.60%	n=6



F[GO(1,12)] >9999

F[(LOF(1,11)] 2.06

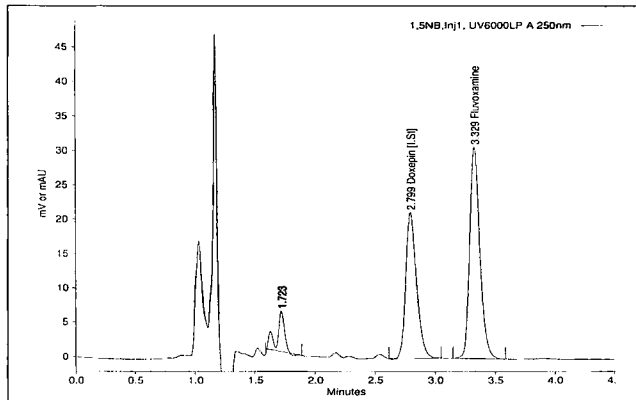


Fluvoxamine

Kwantificering λ : 245 nm
 Lineair bereik : 25 - 600 $\mu\text{g/l}$
 Corr.coef. : 0.9997

F[GOF(1,12)] >9999
 F[(LOF(1,11))] 1.58

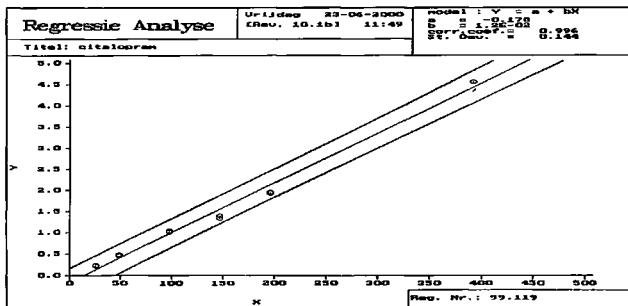
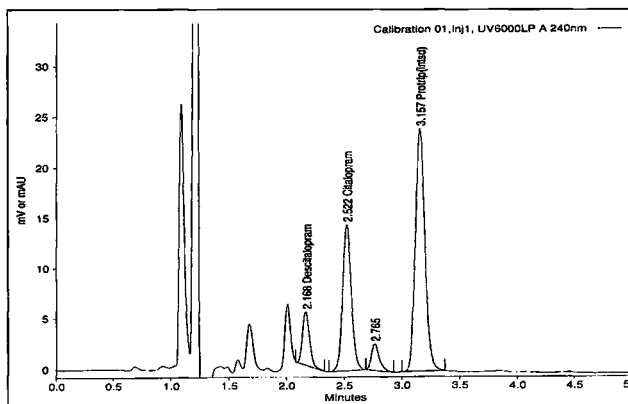
Fluvoxamine	75 $\mu\text{g/l}$	150 $\mu\text{g/l}$	300 $\mu\text{g/l}$	opm.
Recovery	84.6%	88.6%	94.6%	n=6
Juistheid	99.8%	99.8%	99.9%	n=6
95% BI	± 1.37	± 2.51	± 3.81	n=6
Varcoeff.	1.78%	1.32%	1.23%	n=6



Citalopram

Kwantificering λ : 240 nm
 Lineair bereik : 25 - 400 $\mu\text{g/l}$
 Corr.coef. : 0.9959

Citalopram	48.9 $\mu\text{g/l}$	97.9 $\mu\text{g/l}$	146.9 $\mu\text{g/l}$	opm.
Recovery	106.52%	94.88%	88.38%	n=6
Juistheid	98.10%	102.80%	99.54%	n=6
95% BI	± 2.01	± 3.91	± 6.10	n=6
Varcoeff.	3.98%	2.98	1.27%	n=6



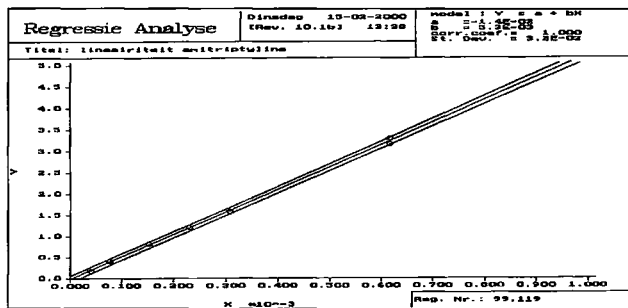
F[GOF(1,13)] 3050
 F[(LOF(1,12)] 2.35

Des. citalopram	30.5 $\mu\text{g/l}$	91.5 $\mu\text{g/l}$	122.0 $\mu\text{g/l}$	opm.
Recovery	68.09%	53.88%	63.21%	n=6
Juistheid	105.29%	92.64%	100.48%	n=6
95% BI	± 1.20	± 1.08	± 4.77	n=6
Varcoeff.	3.50%	1.48%	3.71%	n=6

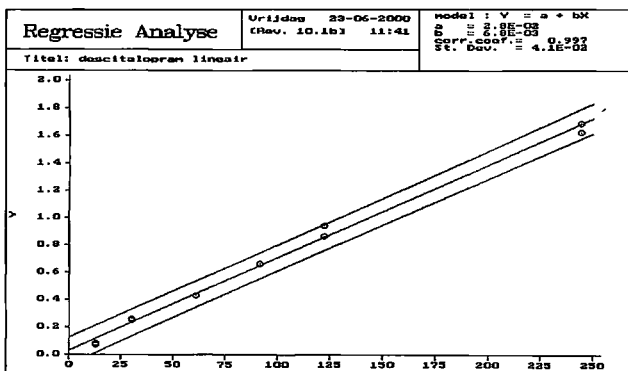
Amitriptyline

Kwantificering λ : 240 nm
 Lineair bereik : 25 - 600 $\mu\text{g/l}$
 Corr.coef. : 0.9997

Amitriptyline	75 $\mu\text{g/l}$	150 $\mu\text{g/l}$	300 $\mu\text{g/l}$	opm.
Recovery	92.2%	106.6%	77.7%	n=6
Juistheid	98.5%	101.7%	100.5%	n=6
95% BI	± 1.67	± 2.40	± 4.14	n=6
Varcoeff.	2.09%	1.19%	1.27%	n=6

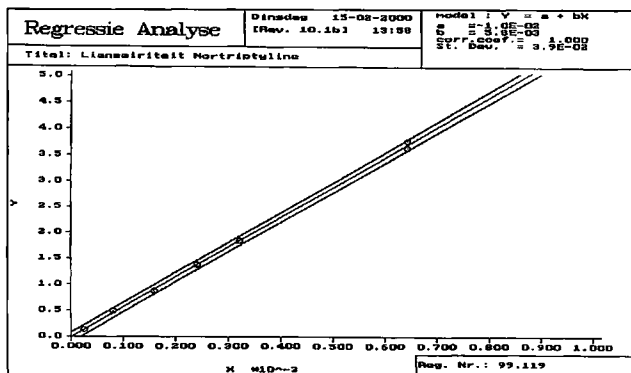


F[GOF(1,13)] >9999
 F[(LOF(1,12)] 3.28



F[GOF(1,13)] 1328
 F[(LOF(1,12)] 3.17

Nortriptyline	75 $\mu\text{g/l}$	150 $\mu\text{g/l}$	300 $\mu\text{g/l}$	opm.
Recovery	90.7%	78.2%	75.0%	n=6
Juistheid	103.7%	95.2%	102.2%	n=6
95% BI	± 2.10	± 2.01	± 4.41	n=6
Varcoeff.	2.38%	1.02%	1.28%	n=6



F[GOF(1,10)] >9999
 F[(LOF(4,6)] 1.11

