



# De analyse van sufentanil citraat

**In aanwezigheid van een relatief hoge concentratie bupivacaine hydrochloride met vaste fase extractie monster-voorbewerking en hoge pres-tatie vloeistof chromatografie [in press].**

M.C.J. Langen, K.L.L. Movig en  
A.C.G. Egberts  
TweeSteden ziekenhuis, Ziekenhuis  
Apotheek Midden-Brabant  
Postbus 90107  
5000 LA Tilburg  
Tel. 013-4655882

## Inleiding

Bupivacaine HCl wordt vaak in combinatie met opioïden gebruikt als epidurale pijnstillers. Continue epidurale toediening van opioïden met bupivacaine HCl wordt vaak toegepast tijdens bevallingen en post-operatieve pijnbestrijding [1, 2]. Voor deze twee toepassingen wordt in het TweeSteden ziekenhuis vaak gebruik gemaakt van de combinatie sufentanil citraat (1,0 µg/ml) en bupivacaine HCl (0,125%). De bereiding van de combinatie vindt plaats in de operatiekamers. Vanuit een kwaliteitsoogpunt dient de voorkeur echter gegeven te worden aan een gesteriliseerde bereiding in de apotheek. Gegevens met betrekking tot de stabiliteit van sufentanil citraat en bupivacaine HCl na aseptische bereiding zijn reeds bekend [3, 4]. Diverse methoden zijn beschreven voor de analyse van sufentanil citraat in combinatie met bupivacaine HCl, echter de concentratie sufentanil citraat was dan vaak hoger dan in onze combinatie. In de literatuur werd geen methode gevonden die de analyse beschreef van lage concentraties sufentanil citraat in aanwezigheid van een relatief hoge concentratie bupivacaine HCl. Doel van het onderzoek was een nieuwe analyse methode ontwikkelen, geschikt voor het kwantitatief bepalen van een lage concentratie

sufentanil citraat in aanwezigheid van bupivacaine HCl, toepasbaar als routinematige farmaceutische kwaliteitscontrole.

## Reagentia en standaarden

Sufentanil citraat als Sufenta Forte® (50 µg/ml) ampullen werden verkregen van Janssen (Beerse, België). Methanol (PA) en acetonitril (HPLC) werden geleverd door J.T. Baker (Deventer, Nederland). Bupivacaine HCl als Marcaine® 0,5% werd verkregen van Astra (Zoetermeer, Nederland). Beide farmaceutische formuleringen bevatten normale isotone zoutconcentraties, zonder verdere toevoegingen.

Een standaard reeks (bereik: 0,50-1,50 µg/ml) in 0,125% bupivacaine HCl oplossing werd gemaakt door verdunning van de juiste hoeveelheid Sufenta Forte® (50 µg/ml) en Marcaine® (0,5%) in gedemineraliseerd water. De farmaceutische formulering zoals deze door de apotheek bereid wordt heeft een concentratie van 1,0 µg/ml sufentanil citraat en 0,125% bupivacaine HCl in 0,9% NaCl. Clomipramine HCl 40 mg/L in water werd gebruikt als interne standaard.

## SPE monstervorbewerking van sufentanil citraat

SPE werd uitgevoerd met Sep-Pak kolommen, type vac. 3cc tC-18 (Waters, Etten-Leur, Nederland). De kolommen werden geconditioneerd met achtereenvolgens 3 ml methanol en 3 ml water. Na conditionering werd 10 ml monster – gespiked met 100 µl interne standaard – langzaam door de SPE kolom gezogen (ca. 2-3 ml/min).

De kolom werd achtereenvolgens gewassen met 1 ml water en een mengsel van 3 ml fosfaatbuffer en acetonitril (530 ml water met 300 µl fosforzuur 85% en 146 µl TEA, pH = 3.35) en acetonitril (53:47 v/v). Daarna werd de kolom 5 minuten gedroogd onder volledig vacuüm. De

monsters werden geelueerd met 3 ml methanol. De vermelde volume hoeveelheden zijn geoptimaliseerd voor optimale extractie opbrengst in aanwezigheid van 0,125% bupivacaine HCl. Het eluaat werd gedroogd onder stikstof bij 40°C en opgelost in 100 µl HPLC loopploeistof. Het injectievolume bedroeg 50 µl.

## HPLC condities

Alle chromatografische analyses werden uitgevoerd met een L-6200 A pomp, een AS-2000 autoinjector en een L-4500 diode-array detector (Merck/Hitachi, Amsterdam, Nederland). Data werden verwerkt met D-7000 HSM software op een Compaq deskpro 466 computer. Detectie vond plaats bij 205 nm, sufentanil citraat en interne standaard piek oppervlak ratio's werden gebruikt voor kwantificering. De analytische kolom was een Inertsil ODS-2 (5 µm) 250x4,6 mm (Applied Science, Emmen, Nederland). Het injectievolume bedroeg 50 µl en de loopploeistof-snelheid werd ingesteld op 1,0 ml/min bij kamertemperatuur. De loopploeistof werd samengesteld uit een fosfaatbuffer en acetonitril (62:38 v/v) en werd 10 minuten ontgast in een ultrasoonbad. De fosfaatbuffer werd bereid door aan 620 ml gedemineraliseerd water 3000 µl fosforzuur 85% toe te voegen. De pH van de buffer werd ingesteld op 3,35.

## Validatie

De HPLC methode en SPE monstervorbewerking van sufentanil citraat in combinatie met bupivacaine HCl werd uitgevoerd volgens recente richtlijnen van de EMEA (the European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) [5]. Lineariteit, extractieopbrengst, bepalingsgrens, juistheid en precisie herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid van de farmaceutische formulering zijn bepaald.

De analyse werd uitgevoerd met HPLC en UV detectie. De selectiviteit van de methode wordt uitgedrukt als resolutie van de pieken in het chromatogram (eis resolutie > 1,5). In figuur 1 (zie pagina 13) is een chromatogram van de bereiding, sufentanil citraat (1,0 µg/ml) en bupivacaine HCl (0,125%), gespikend met interne standaard na SPE gegeven. Hieruit blijkt dat de resolutie tussen de pieken > 1,5 is en dat de methode voldoende selectief is.

De extractie opbrengst van sufentanil citraat, bepaald uit een bereiding sufentanil citraat (1,0 µg/ml) in bupivacaine HCl (0,125%) (n=6), is  $78,5 \pm 3,7\%$ . De extractie opbrengst van de interne standaard clomipramine HCl is  $81,8 \pm 9,1\%$  (n=6).

De lineariteit van de analyse voor sufentanil citraat werd bepaald met behulp van standaarden 50 tot 150% ten opzichte van de doelwaarde sufentanil citraat in bupivacaine HCl 0,125%. Elke standaard werd

in duplo opgewerkt. Door de piekoppervlak ratio's van sufentanil en de interne standaard uit te zetten tegen de concentratie werd met behulp van lineaire regressie een kalibratielijijn opgesteld. De lineariteit werd getest met een 'goodness-' en 'lack of fit test'.

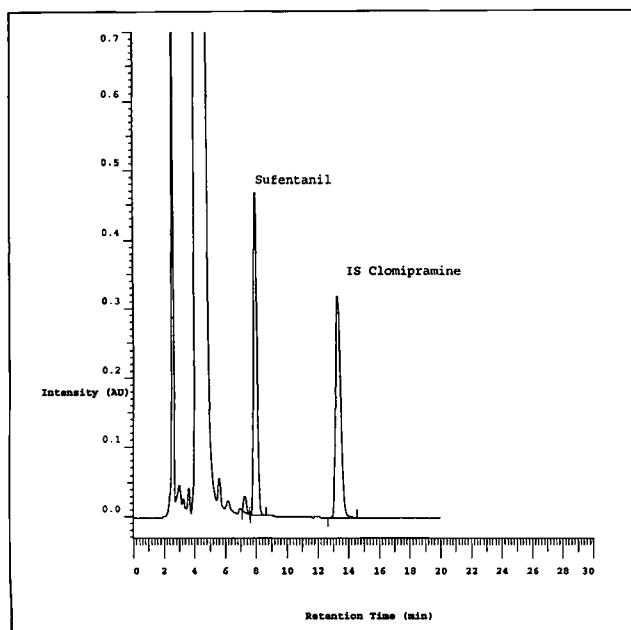
De precisie herhaalbaarheid werd bepaald door 1 monster 6x op te werken. De variatiecoëfficiënt was 4,2%. Uit deze reeks werd ook de juistheid bepaald door de procentuele afwijking ten opzichte van 1,0 mg/ml sufentanil citraat te bepalen; 105,8%. De precisie reproduceerbaarheid werd bepaald door een aantal dagen achter elkaar de testconcentratie te analyseren. De variatiecoëfficiënt voor sufentanil citraat was 11,4% (n=6). De resultaten zijn samengevat in tabel 1 (zie onderaan volgende pagina) en zijn acceptabel bevonden. De detectiegrens en bepalingsgrens, gedefinieerd als respectievelijk 3x en 10x het ruisniveau, zijn eveneens

gegeven in tabel 1. De bepalingsgrens voor sufentanil citraat van 0,29 µg/ml maakt duidelijk dat de methode geschikt is voor farmaceutische kwaliteitscontrole.

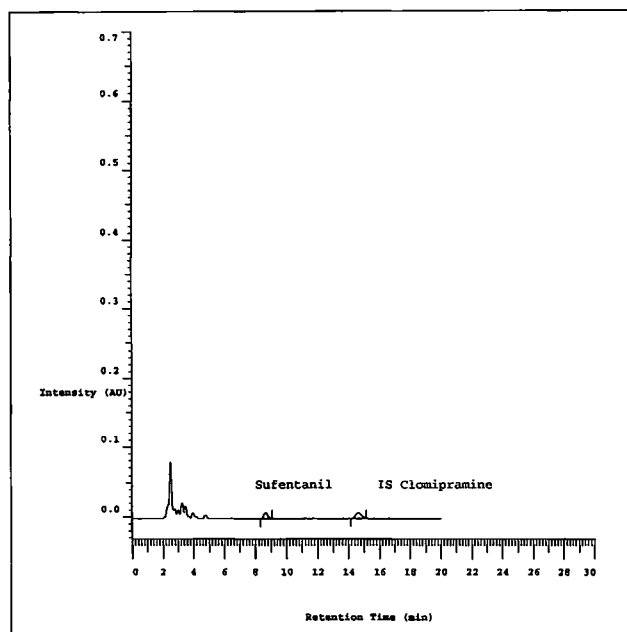
### Discussie

Met de beschreven methode is het mogelijk sufentanil citraat 1,0 µg/ml in combinatie met een hoge concentratie bupivacaine HCl te bepalen. In de literatuur wordt alleen de analyse van sufentanil citraat, in combinatie met bupivacaine HCl, met een concentratie van 5 µg/ml of hoger beschreven [3, 4]. Voor de klinische toepassing van sufentanil citraat in combinatie met bupivacaine HCl wordt echter een concentratie van 0,5 tot 2 µg/ml sufentanil citraat gebruikt.

Een opvallend fenomeen is dat de extractie opbrengst van sufentanil citraat en interne standaard verwaarloosbaar is als geen bupivacaine HCl in de testoplossing aanwezig is.



**Figuur 1:** HPLC chromatogram van sufentanil citraat (1,0 µg/ml) en clomipramine als interne standaard in aanwezigheid van bupivacaine HCl (0,125%) na SPE. HPLC condities: 5 µm Inertsil ODS-2 (250 x 4,6 mm) kolom met fosfaat buffer (620 ml demineraliseerd water met 3000 µl fosforzuur 85% (pH 3.35)) – acetonitril (62:38 v/v); vloeistofsnelheid 1,0 ml/min. UV detectie bij 205 nm.



**Figuur 2:** HPLC chromatogram van sufentanil citraat (1,0 µg/ml) en clomipramine als interne standaard in afwezigheid van bupivacaine HCl na SPE. HPLC condities: als bij figuur 1.

In figuur 2 (zie hierboven) is een chromatogram gegeven van sufentanil citraat en interne standaard na SPE zonder aanwezigheid van bupivacaine HCl in de testoplossing. Verlies van sufentanil citraat door adsorptie aan kunststof oppervlakken tijdens de bereiding is een bekend verschijnsel [6, 7]. Door gebruik te maken van de combinatie met bupivacaine HCl neemt deze adsorptie af. Adsorptie van een geneesmiddel aan een synthetisch polymeer is afhankelijk van een aantal verschil-

lende factoren zoals oppervlak en volume ratio en fysische eigenschappen van het oplosmiddel, polymeer en geneesmiddel [8, 9].

De beschreven methode is gevoelig genoeg om gebruikt te kunnen worden in de farmaceutische kwaliteitscontrole. Op dit moment wordt een houdbaarheidsonderzoek afgerond waarbij het verloop van de eerder genoemde concentraties van beide geneesmiddelen, na sterilisatie, in de tijd gevolgd zijn.

**Literatuur**

1. J.D. Vertommen, E. Vandermeulen, H. Van Aken, L. Vaes, M. Soetens, A. Van Steenberge, P. Mourisse, H. Noorduyn, H. Devlieger and A.F. Assche. The effects of the addition of sufentanil citrate to 0,125% bupivacaine on the quality of analgesia during labor and on the incidence of instrumental deliveries. *Anesthesiology*, 74 (1991) 809-814.
2. A.L. Shafer and A.J. Donnelly. Management of postoperative pain by continuous epidural infusion of analgesics. *Clin. Pharm.*, 10 (1991) 745-764.
3. J.R.B.J. Brouwers, H. van Doorne, R.F. Meevis and F.P. Boersma. Stability of sufentanil citrate and sufentanil citrate/bupivacaine mixture in portable infusion pump reservoirs. *Eur. Hosp. Pharm.*, 1 (1995) 12-14.
4. P.J. Roos, J.H. Glerum and M.J. Schroeders. Effect of glucose 5% solution and bupivacaine hydrochloride on absorption of sufentanil citrate. *Eur. Hosp. Pharm.*, 1 (1995) 12-14.

**Tabel 1**

Validatie gegevens voor sufentanil citraat 1,0 µg/ml in bupivacaine HCl 0,125%. (n=6)

Extractie opbrengst (sufentanil citraat)	[gemiddelde ± vc]	87,5%	± 3,7%
Extractie opbrengst (interne standaard)	[gemiddelde ± vc]	81,8%	± 9,1%
Precisie herhaalbaarheid	[concentratie ± vc]	1,0 µg/ml	± 4,2%
Precisie reproduceerbaarheid	[concentratie ± vc]	1,0 µg/ml	± 11,4%
Juistheid		1,0 µg/ml	[105,8%]
Detectiegrens			0,09 µg/ml
Bepalingsgrens			0,29 µg/ml

- tanil citrate in a portable pump reservoir during storage and simulate infusion by an epidural catheter. *Pharm. World Sci.*, 15 (1993) 269-275.
5. EMEA. Validation of analytical procedures: methodology. London: CPMP/ICH/281/95, 1996.
6. E.H. Bosch, H. van Doorne, J.R.B.J. Brouwers, A. Marskamp and R.F. Meevis. Decrease of sufentanil citrate concentration during formulation and application of an epidural infusion solution. *Ziekenhuisfarmacie*, 9 (1993) 97-101.
7. P.J. Roos, J.H. Glerum, J.W. Meilink and L. Zwang. Effect of pH on absorption of sufentanil citrate in a portable pump reservoir during storage and administration under simulated epidural conditions. *Pharm. World Sci.*, 15 (1993) 139-144.
9. D.S. Hayward, R.A. Kenley and D.R. Jenke. Interactions between polymer containers and parenteral solutions: the correlation of equilibrium constants for polymer-water partitioning with octanol-water partition coefficients. *Int. J. Pharm.*, 59 (1990) 245-253.
9. L. Illum and H. Bundgaard. Sorption of drugs by plastic infusion bags. *Int. J. Pharm.*, 10 (1982) 339-351.