

## LCMSMS – 4

**S-Amiodaron (NPU01219)****S-Flekainid (NPU02059)****S-Quetiapin (NPU18999)****S-Metadon (NPU04113)****S-Klozapin (NPU04114)****S-Norklozapin (Desmetylklozapin) (NPU21702)**

### Bakgrund, indikation och tolkning

**Amiodaron** (Cordarone®) är ett klass III antiarytmikum och ett utpräglat specialistpreparat. Det kan användas för svårbehandlade supraventrikulära och/eller ventrikulära arytmier. Amiodaron kan ges peroralt eller intravenöst. Amiodaron metaboliseras i levern till bl.a. desetylamiodaron. Amiodaron är höggradigt proteinbundet (>95 %). Halveringstiden är mycket lång, i medeltal ca 30 - 50 dagar, i extrema fall mellan 13 och 120 dagar. Detta medför lång tid till jämvikt varför man brukar inleda behandlingen med en peroral eller intravenös uppladdning.

Säkerställt terapeutiskt intervall saknas och sambanden mellan koncentration och effekt respektive biverkningar är ofullständigt utredda. I ett par studier har antiarytmisk verkan visats vara större vid plasmakoncentrationer över 1,5 µmol/L än under. Flertalet patienter uppvisar en eller flera biverkningar vid amiodaronkoncentrationer över 4 µmol/L. Dock kan lungbiverkningar uppkomma vid låga serumkoncentrationer. Det som korrelerar bäst till amiodarons toxicitet är den totala exponeringen. Amiodaron ackumuleras i vävnaderna och har en lång halveringstid, c:a 40 dagar. Detta innebär att det tar flera månader att eliminera amiodaron efter avslutad behandling. Amiodaron metaboliseras i levern och kan hämma CYP2C9 varför serumkoncentrationen av andra läkemedel som metaboliseras via detta enzym kan förändras. Analysen är av värde vid terapivikt eller misstänkta biverkningar.

**Flekainid** (Tambocor®) är ett antiarytmikum med lokalanestetisk effekt som elektrofysiologiskt kan hänföras till klass 1C (enligt Vaughan-Williams and Harrison). Maximal plasmakoncentration uppnås efter 2-4 timmar och halveringstiden i plasma är ca 20 timmar (12-30 timmar). Flekainid utsöndras huvudsakligen via njurarna (85 %), varav ca 30 % i oförändrad form. Flekainid uppvisar icke linjär kinetik inom dosområdet vid upprepad dosering, dvs. en dosändring förväntas inte ge en proportionell ändring av serumkoncentrationen. Då en stor del av given dosen elimineras via njurarna har detta förmodligen bara betydelse vid nedsatt njurfunktion. Sammanfattningsvis visar flertalet studier att god effekt av flekainid fås vid serumkoncentrationer mellan 0,5-2,0 µmol/L. Vid serumkoncentrationer överstigande 2,1 µmol/L ökar risken för toxiska effekter och vid koncentrationer överstigande 3,3 µmol/L är risken påtaglig. Bland allvarliga biverkningar kan noteras ventrikulära arytmier.

Ges i form av dess salt med ättiksyra (flekainid acetat).

**Klozapin** är ett neuroleptikum. Den huvudsakliga indikationen för koncentrationsbestämning är frågeställningar gällande ”compliance” och över- eller underdosering. Klozapinets effekt anses främst bero på blockad av dopaminreceptorer (D1 och D2) i CNS. Klozapin uppvisar linjär kinetik och har en genomsnittlig halveringstid på cirka 12 timmar (6-30 timmar). De flesta studier har påvisat en lägsta effektiva koncentration för klozapin med en relativt klar gräns vid 1050 nmol/L. Dock finns det patienter som har effekt vid lägre koncentrationer, varför titrering till minsta effektiva dos bör göras i varje enskilt fall. Det finns ingen etablerad övre serumkoncentrationsgräns. Det finns inget entydigt samband mellan serumkoncentration och biverkningar men vid serumkoncentrationer överstigande 3000 nmol/L ökar risken signifikant för allvarliga biverkningar som konfusion och kramper [8]. Elimination av klozapin sker huvudsakligen via metabolism i levern av cytokromoxidas isoformerna CYP1A2 och SYP3A4 och huvudmetaboliten, desmetylklozapin har farmakologisk effekt.

Svar lämnas även på metaboliten desmetylklozapin (*N*-desmetylklozapin).

## Quetiapin

Quetiapin (Seroquel®) är ett atypiskt antipsykotikum som i kliniska studier har samma effekt som traditionella antipsykotika vid kortvarig behandling av schizofreni. Quetiapin binder *in vitro* till ett flertal receptorer i CNS och har hög affinitet till serotonin (5HT<sub>2</sub>) receptorer medan affiniteten är moderat för dopamin (D<sub>2</sub>) och låg för dopamin (D<sub>1</sub>) och serotonin (5HT<sub>1A</sub>) receptorer. Quetiapin har ingen eller låg affinitet för muskarina receptorer. Den högre affiniteten för 5HT<sub>2</sub>- än D<sub>2</sub>-receptorer anses vara orsaken till att Quetiapin har lägre benägenheten för extrapyramidala biverkningar jämfört med traditionella antipsykotika

Biotillgänglighet har ej bestämts. Av given dos utsöndras 73 % via urinen och 21 % via faeces vilket indikerar en god absorption och mindre än 1 % utsöndras oförändrad i urinen. Plasmaproteinbindning är 83 % och distributionsvolymen är 10 L/kg. Quetiapin genomgår en omfattande metabolism i levern och ett tjugotal metaboliter har identifierats. Huvudmetaboliterna är inte farmakologiskt aktiva. Quetiapins metabolism påverkas inte av kön, ålder eller rökning. Quetiapin metaboliseras huvudsakligen via CYP3A4. Samtidig lever- eller njursjukdom påverkar inte eliminationen av Quetiapin men doseskalering vid dessa tillstånd bör genomföras med försiktighet. Halveringstiden är 7 timmar. Det finns inget etablerat samband mellan serum koncentration och effekt för quetiapin. [1].

Dygnsdoser från ≤ 250 till 750 mg/dygn ger i regel serumkoncentrationer mellan 45 och 440 nmol/L [1]. I de studier som visat effekt har 85 % av patienterna haft doser mellan 600-800 mg/dygn. Det finns inga data för doser högre än 800 mg/dygn. Olika läkemedelsberedningar, extended release Quetiapine fumarate och Quetiapine immediate release, har gett jämförbara dalvärden efter 24 resp 12 timmar [2].

## Metadon

Metadon (Metadon Pharmacia) är ett läkemedel som används för behandling av opioidberoende. Maximal serumkoncentration inträffar 1-4 timmar efter intag. Halveringstiden är 13-47 timmar. Metaboliseringen av metadon sker till 75 % i levern huvudsakligen av CYP3A4 till en inaktiv *N*-demetylerad pyrrolidin, och troligen bidrar även CYP2D6 och CYP1A4 i nedbrytningsprocessen. Läkemedel som inducerar eller hämmar CYP3A4 kan påverka nivåerna av metadon i blodet. Ungefär 25 % av metadonet utsöndras oförändrat i

urinen [3, 4]. Metadon förekommer som två optiskt aktiva former, R-metadon och S-metadon. R-formen har en upptill 50-faldig högre biologisk aktivitet än S-formen. Största delen av plasmametadon är proteinbundet, medan 2 till 4 %, beroende på enantiomerform, förekommer som fritt metadon [3]. LC-MS/MS metoden mäter totala koncentrationen av metadon, dvs summan av de två enantiomererna i proteinbunden och fri form.

Vid oklara kliniska fall kan det vara bra att analysera metadon med en enantiomerspecifik metod. En sådan analys utförs vid Klinisk Farmakologi, Universitetssjukhuset, Solna.

## Analysprincip

Metoden mäter Flekainid, Klozapin, Desmetylklozapin, Amiodaron, Metadon och Quetiapin med sina respektive deutererade homologer som intern standards.

Serum blandas med acetonitril/etanol, centrifugeras, varefter supernatanten efter ytterligare spädning analyseras med masspektrometri (LC-MS/MS), en teknologi som kännetecknas av god känslighet och mycket hög specificitet.

LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplad till en HPLC. Separation av olika provmolekyler sker i en HPLC-kolonn. Provmolekyler som bildar positiva joner i sur miljö joniseras i jonkällan. Joniseringen sker enligt principen API ES (atmospheric pressure ionisation electrospray). I första kvadrupolen selekteras molekyljonen för aktuell komponent. I andra kvadrupolen fragmenteras molekyljonen med en för denna jon specifik energi. I tredje kvadrupolen selekteras ett av molekyljonens fragment, vanligtvis det med störst intensitet. Den resulterande jonintensiteten mäts med en elektronmultiplikator. Koncentrationen beräknas med hjälp av kalibratorer på 5 nivåer, quadratic fit med viktning  $1/x$ . Kurvan går inte igenom noll.

## Referensintervall

### Riktområde:

Amiodaron:	1-4 $\mu\text{mol/L}$
Flekainid:	0,5-2 $\mu\text{mol/L}$ [7]
Quetiapin:	50-700 $\text{nmol/L}$ [10], Toxisk nivå: > 2500 $\text{nmol/L}$ [11]
Metadon:	600-1200 $\text{nmol/L}$
Klozapin:	1000-3000 $\text{nmol/L}$ [8, 9]
Desmetylklozapin	Terapeutiskt riktområde är ej fastställt

## Metodkaraktistika

### Interferenser och felkällor

Påverkan av hemolys, hyperlipidemi, hyperbilirubinemi och uremi är inte testad men vi antar att någon sådan inte finns på grund av den höga specificiteten i LC-MS/MS teknologin.

### Mätområde

Komponent	Enhet	Mätintervall
Amiodaron	µmol /L	0,031-8
Flekainid	µmol /L	0,031-8
Quetiapin	nmol/L	16-4000
Metadon	nmol/L	16-4000
Klozapin	nmol/L	31-8000
Desmetylklozapin	nmol/L	31-8000

### Mätosäkerhet (enligt årsgenomgång för 2019)

Komponent	Låg kontroll		Hög kontroll	
	Börvärde (nmol/L)	CV%	Börvärde (nmol/L)	CV%
Amiodaron	0,11	7	6,1	5
Flekainid	0,11	13	6,2	8
Quetiapin	50	7	3000	7
Metadon	50	5	3000	5
Klozapin	100	8	6000	10
Desmetylklozapin	111	9	6700	10

### Spårbarhet

Kalibreringen är spårbar via analyscertifikat från respektive leverantör av referenssubstanser.

### Riktighet

Kontroll av riktigheten för Amiodaron, Quetiapin, Klozapin och Flekainid kontrolleras genom deltagande i externt kontrollprogram (LGC Standards).

### Validering

Valideringen har utförts vid Klinisk kemi [13]. Riktigheten har verifierats genom jämförelse med de HPLC-metoder som tidigare var i bruk vid laboratoriet vad avser Amiodaron och Flekainid [13]. Riktigheten av Metadon har verifierats genom en jämförelse med en immunologisk Abbot TDX-metod.

### Övrig information

Metoden är ackrediterad.

Normal analysfrekvens är en gång i veckan.

## Referenser

1. Small JG, Hirsch, SR, Arvantis LA et al. Quetiapine in patients with schizophrenia. A high- and low- dose double-blind comparison with placebo. Seroquel study Group. Arch Gen Psychiatry 1997;54:549-557.
2. Figueroa C, Brecher M, Hamer-Maansson JE, Winter H. Pharmacokinetic profiles of extended release quetiapine fumarate compared with quetiapine immediate release. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2009 Mar 17:33(2):199-204
3. Steady-state pharmacokinetics of (R)- and (S)-methadone in methadone maintenance patients. David J.R. Foster, Andrew A. Somogyi, Kyle R. Dyer et. Al. Br J Clin Pharmacol 50 (2000) 427-440.
4. Ferrari A, Ciccia C P R, Bertolini A, Sternieri E. Methadone – metabolism, pharmacokinetics and interactions. Pharmacol Res 50 (2004), 551-559.
5. Operator Dokumentation Applied Biosystems MDS Sciex p/n 1008281A, CD.
6. [C-7506, Instrumenthandledning LCMSMS AB Sciex QTrap 5500-1, Lund](#)
7. [C-7656, Instrumenthandledning LCMSMS Beräkningar](#)
8. Boriani G, Capucci A, Strochi E et. al. Flecainide acetate: concentration-response relationships for antiarrhythmic and electrocardiographic effects. Int J Clin Pharmacol Res. 1993;13(4):211-9.
9. Freeman et al. 1997. Clin. Pharmakokin. 32, 93-100.
10. Therapeutic monitoring of new antipsychotic drugs. Hiemke C, Dragicevic A, et al. Ther Drug Monit 2004, 26: 156-60.
11. S:t Olavs Hospital, Klinisk farmakologi, Brukerhåndbok
12. R. Baselt, *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 8th edition, Biomedical Publications, Foster City, CA, 2008, pp. 1355–1357
13. Valideringsprotokoll Antiarytmika (och LCMSMS-4), Klinisk kemi och farmakologi.
14. [17-320, Hamilton Microlab STARlet Robot \(Mercurius och Venus\)](#)
15. [16-1092, Instruktion för utvärdering på LC-MS](#)
16. [17-198, Analysprotokoll LCMS-4](#)
17. [C-7665, Serum av plasma, Lund](#)